



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑ»**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΣΑΣΙΑ

**Αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης που επάγεται μετά
τον εμβολιασμό με COVID-19 mRNA BTN162b2 έναντι του
SARS-CoV-2 σε ενήλικες**

Ζουμπουνέλλη Σταματία

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

Τσολάκη Βασιλική, Επιμελήτρια ΕΣΥ, PhD, Διδάσκουσα ΠΜΣ Π.Δ. 407/80

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τσολάκη Βασιλική, Επιμελήτρια ΕΣΥ, PhD, Διδάσκουσα ΠΜΣ Π.Δ. 407/80

Ζακυνθινός Επαμεινώνδας, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας

Μακρής Δημοσθένης, Επίκουρος Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας

Λάρισα, 16/6/2021



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑ»**



**Evaluation of the antibody response induced after vaccination
with COVID-19 mRNA BNT162b2 for SARS-CoV-2 in adults**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εξώφυλλο.....	1
Σελίδα τίτλου.....	2
Περιεχόμενα.....	3
Ευχαριστίες.....	4
Ελληνική και Αγγλική Περίληψη (Abstract).....	5
Συντομογραφίες.....	9
Εισαγωγή.....	11
Γενικό Μέρος.....	14
Ειδικό Μέρος.....	33
Σκοπός.....	49
Πληθυσμός μελέτης και Μέθοδος.....	50
Αποτελέσματα.....	54
Συζήτηση.....	64
Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	67
Παράρτημα/τα.....	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I:.....	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II: ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	84
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ III:.....	87

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί τμήμα της μελέτης «Μελέτη επαγωγής χυμικής και κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό COVID-19», η οποία πραγματοποιείται σε συνεργασία του τμήματος Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας (Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας) και του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας (Διευθυντής Καθ. Χ. Χατζηχριστοδούλου), του κλινικοεργαστηριακού τομέα του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθ. Μ. Σπελέτα και την Κα Σ. Σάρρου (Ιατρό Βιοπαθολόγο- Μικροβιολόγο) για την εμπιστοσύνη τους και τη συνεργασία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΚΟΠΟΣ: Η αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης που επάγεται μετά τον εμβολιασμό με δύο δόσεις του εμβολίου COVID-19 mRNA BNT162b2 έναντι του SARS-COV-2, καθώς και η διάρκεια της ανοσίας.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ: Εκατόν δύο ενήλικες, που εμβολιάστηκαν με mRNA BNT162b2 Pfizer κατά τη χρονική περίοδο Ιανουάριος-Φεβρουάριος 2021 συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Όλοι οι συμμετέχοντες εμβολιάστηκαν με δύο δόσεις του εμβολίου με μεσοδιάστημα 3 εβδομάδων. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν την ημέρα του πρώτου εμβολιασμού, στις 3 εβδομάδες, 6 εβδομάδες και 3 μήνες μετά. Σε όλους του συμμετέχοντες καταγράφηκαν τα δημογραφικά δεδομένα, οι συννοσηρότητες, οι ανεπιθύμητες ενέργειες του εμβολίου και η προηγούμενη θετική PCR για SARS-CoV-2. Η εκτίμηση των αντισωματικών απαντήσεων έγινε με τον προσδιορισμός των IgG και IgA αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S με τη μέθοδο της ELISA και των αντισωμάτων N και των IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας (CMIA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Ανεδείχθη ανάπτυξη αντισωματικής απάντησης (IgG anti-RBD με τη μέθοδο CMIA) σε ποσοστό 83% μετά την πρώτη δόση του εμβολίου και 98% μετά τη δεύτερη δόση. Ο τίτλος των αντισωμάτων αυξήθηκε εκθετικά (120 φορές) μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου (αιμοληψία στις 42 ημέρες). Αν και οι τίτλοι των παραγόμενων αντισωμάτων υποτριπλασιάστηκαν στους 3 μήνες μετά τον εμβολιασμό, όλοι οι συμμετέχοντες που ανέπτυξαν αντισωματική απάντηση, τη διατήρησαν ως αυτή τη χρονική περίοδο. Στο διάστημα της μελέτης, δύο συμμετέχοντες (2%), 2 μήνες περίπου μετά τον εμβολιασμό, είχαν θετική PCR και ανέπτυξαν ήπια συμπτώματα COVID-19, χωρίς να χρειαστούν νοσηλεία. Από την πολυπαραγοντική μελέτη, λαμβάνοντας υπόψη τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τις συννοσηρότητες, τις ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τον εμβολιασμό, ανεδείχθη ότι στην ηλικιακή ομάδα 50 έως 69 ετών, η αρτηριακή υπέρταση ($p < 0,019$) και η αγγειακή νόσος ($p < 0,010$) φαίνεται να έχουν σημαντική αρνητική συσχέτιση για την αρχική αντισωματική απάντηση, ενώ η αγγειακή νόσος ($p = 0,004$) και τα αυτοάνοσα νοσήματα ($p < 0,001$) φαίνεται να έχουν σημαντική αρνητική συσχέτιση για την οριστική αντισωματική απάντηση (μετά την ολοκλήρωση του εμβολιασμού). Στην ηλικιακή ομάδα 70 ετών και άνω, η ύπαρξη τουλάχιστον μίας από τις αναφερόμενες συννοσηρότητες συσχετίζεται αρνητικά ($p = 0,035$) με την παραγωγή αντισωμάτων μετά την ολοκλήρωση των εμβολίων. Στην ηλικιακή ομάδα 18 έως 49 ετών κανένας παράγοντας δε φαίνεται να επηρεάζει την τελική αντισωματική απάντηση.

Η ηλικία, φαίνεται να είναι καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη αντισωματικής απάντησης (OD: 1,057, $p=0,005$). Οι συμμετέχοντες από 18 έως 49 ετών (ομάδα Α) ανέπτυξαν αντισώματα σε ποσοστό 97% από την πρώτη δόση του εμβολίου, τα άτομα ηλικίας 50 έως 69 ετών (ομάδα Β) σε ποσοστό 88%, ενώ τα άτομα ηλικίας άνω των 70 (ομάδα Γ) ετών σε ποσοστό 59%. Τα ποσοστά αυτά βελτιώθηκαν σημαντικά μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου όπου στην ομάδα Α 100% ανέπτυξαν αντισώματα, στην ομάδα Β 97% και στην ομάδα Γ 91%. Στους 3 μήνες, όλοι οι συμμετέχοντες διατήρησαν αντισωματική απάντηση, αλλά οι τίτλοι των αντισωμάτων μειώθηκαν αναλογικά με την ηλικιακή ομάδα. Στους συμμετέχοντες με προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2, τα αντισώματα IgG anti-RBD CMIA, ήταν 25,6 φορές περισσότερα σε σύγκριση με αυτούς χωρίς προηγούμενη μόλυνση, στις 21 ημέρες, 3,4 φορές περισσότερα στις 42 ημέρες και 6,6 φορές περισσότερα στους 3 μήνες.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Αντισωματική απάντηση έναντι του SARS-CoV-2, παρατηρείται στο 98% των ατόμων που εμβολιάστηκαν με mRNA BNT162b2, η οποία διατηρείται τουλάχιστον ως το τρίμηνο μετά τον εμβολιασμό. Η ηλικία, φαίνεται να είναι καθοριστικός παράγοντας για την χυμική απάντηση, όσο αυξάνεται η ηλικία μειώνεται η πιθανότητα ανάπτυξης αντισωμάτων και ο τίτλος τους. Επιπλέον, η υπέρταση, η αγγειακή νόσος, τα αυτοάνοσα νοσήματα και η ύπαρξη τουλάχιστον μίας συννοσηρότητας σχετίζονται αρνητικά με την ανάπτυξη αντισωμάτων στα μεγαλύτερα ηλικιακά άτομα. Τα άτομα με προηγούμενη μόλυνση από τον ιό εμφανίζουν επαρκή και ισχυρή χυμική ανοσιακή απάντηση από την πρώτη δόση του εμβολίου, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι είτε μπορεί να παραληφθεί η δεύτερη δόση του εμβολίου σε αυτά τα άτομα είτε να καθυστερήσει ώστε να προτεραιοποιηθούν άλλα άτομα, κατά τη διάρκεια της πανδημίας. Η εξουδετερωτική ικανότητα των αντισωμάτων, η επαγωγή της κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό, η ανοσολογική απάντηση άλλων εμβολίων και το γενετικό προφίλ των συμμετεχόντων που δεν ανέπτυξαν αντισώματα, είναι σημαντικά ερωτήματα που αφορούν το εμβολιασμό και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: SARS-CoV-2, BNT162b2, χυμική ανοσία, αντισωματική απάντηση, εμβολιασμός

ABSTRACT

AIM: Evaluation of the antibody response induced after vaccination with two doses of COVID-19 mRNA BNT162b2 vaccine for SARS-COV-2, as well as the duration of immunity.

METHODS: One hundred and two adults vaccinated with Pfizer mRNA BNT162b2 during January-February 2021 enrolled in the study. All participants underwent two doses of the vaccine with an interval of 3 weeks. Blood samples were collected on the day of the first vaccination, at 3 weeks, 6 weeks and 3 months after. Demographic data, comorbidities, vaccine side effects, and previous positive SARS-CoV-2 PCR were recorded in all participants. Antibody responses were assessed with the determination of IgG and IgA antibodies against S protein by ELISA and N antibodies and IgG antibodies against RBD S1 subgroup of SARS-CoV-2 spike protein, by Chemiluminescence (CMIA).

RESULTS: Development of antibody response (IgG anti-RBD by CMIA) was 83% after the first dose of the vaccine and 98% after the second dose. Antibody titer increased exponentially (120 times) after the second dose of the vaccine (blood sampling at 42 days). Although the titers of antibodies produced under-triplicated 3 months after vaccination, all participants who developed antibody response maintained it until this time. During the study, two participants (2%), approximately 2 months after vaccination, tested positive for PCR and developed mild COVID-19 symptoms without the need for hospitalization. Multivariate analysis including demographic characteristics, comorbidities and side effects after vaccination as covariates, showed that in the age group 50 to 69 years, hypertension ($p < 0.019$) and vascular disease ($p < 0.010$) appear to have a significant negative correlation for the initial antibody response, while vascular disease ($p = 0.004$) and autoimmune diseases ($p < 0.001$) appear to have a significant negative correlation for the definitive antibody response (after completion of vaccination). In the age group 70 years and older, the presence of at least one of the reported comorbidities is negatively correlated ($p = 0.035$) with the production of antibodies after the completion of the vaccines. In the age group 18 to 49, none of the factor seems to affect the final antibody response.

Age seems to be a determining factor in the development of antibody response (OD: 1,057, $p=0,005$). 97% of participants aged 18 to 49 years (group A) developed antibodies from the first dose of the vaccine, 88% of subjects aged 50 to 69 years (group B), while 59% of subjects aged over 70 (group C). These percentages improved significantly after the second dose of the vaccine where in group A 100% developed antibodies, in group B 97% and in group C 91%. At 3 months,

antibody response maintained in all participants, but antibody titers fell in proportion to age subgroup. Participants with previous SARS-CoV-2 infection had 25.6 folds more IgG anti-RBD CMIA antibodies than those without previous infection at 21 days, 3.4 folds more at 42 days, and 6.6 folds more in 3 months.

CONCLUSIONS: Antibody response to SARS-CoV-2 is observed in 98% of individuals vaccinated with BNT162b2 mRNA, which persists for at least up to three months after vaccination. Age seems to be a determining factor for the humoral response. As age increases the likelihood of developing antibodies and high titers decreases. In addition, hypertension and the presence of at least one comorbidity are associated with the development of antibodies in older individuals. Subjects with previous infection with the virus have adequate and strong humoral immune response from the first dose of the vaccine, which probably means that either the second dose of the vaccine may be missed or it may be latened to prioritize other individuals. during the pandemic. Neutralizing antibodies, induction of cellular immunity after vaccination, immune response of other vaccines and the genetic profile of participants who did not develop antibody response are important questions that need further investigation.

KEYWORDS: SARS-CoV-2, BNT126b2, humoral immunity, antibody response, vaccination

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

- AAV:** Adeno Associated Virus (αδενοσχετιζόμενοι ιοί)
- ACE-2:** Angiotensin Converting Enzyme-2 (αναστολέας μετατρεπτικού ενζύμου-2)
- ARDS:** Acute Respiratory Distress (σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας)
- ASC:** Antibody Secreting Cells (κύτταρα που παράγουν αντισώματα)
- BI:** Binding Index (δείκτης σύνδεση) $BI = OD_{(optical\ density)} / CO_{(cut-off)}$
- CLIA:** Chemiluminescence immunoassay (ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας)
- COVID-19:** Corona Virus Disease-2019 (νόσος κορωνοϊού 2019)
- CRRT:** Continuous Renal Replacement Therapy (θεραπεία συνεχούς νεφρικής κάθαρσης)
- DNA:** Deoxyribonucleic Acid (δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ)
- ECMO:** Extracorporeal Membrane Oxygenation (εξωσωματική μεμβρανική οξυγόνωση)
- ELISA:** Enzyme-linked Immunosorbent Assay (συνδεδεμένος με ένζυμο ανοσοπροσροφητικός προσδιορισμός)
- HAP:** Hospital Acquired Pneumonia (πνευμονία σχετιζόμενη με το νοσοκομείο)
- HFNC:** High-Flow Nasal Oxygen (οξυγόνου με ρινικό καθετήρα υψηλής ροής)
- HIT:** Heparin Induced Thrombocytopenia (θρομβοπενία επαγόμενη από την ηπαρίνη)
- Ig:** Immunoglobulin (ανοσοσφαιρίνη)
- IL:** Interleukin (ιντερλευκίνη)
- m-RNA:** messenger Ribonucleic Acid (αγγελιοφόρο ριβονουκλεϊκό οξύ)
- Mean:** μέσος όρος (MO)
- MERS-CoV:** Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (κορωνοϊός αναπνευστικού συνδρόμου της Μέσης Ανατολής)
- MHC:** Major Histocompatibility Complex (μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας)
- NK cells:** Natural Killers cells (κύτταρα φυσικοί φονείς)
- NSP:** Nonstructural Protein (μη δομικές πρωτεΐνες)
- OD:** Optical Density (οπτική πυκνότητα)
- SARS-CoV-2:** Severe Acute Respiratory Syndrome (σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο)
- SD:** Standard Deviation (τυπική απόκλιση)
- TH1 cells :** T helper 1cells (T βοηθητικά κύτταρα)
- TMPRSS2:** Transmembrane protease, serine 2 (διαμεμβρανική πρωτεάση της σερίνης 2)
- TNFα:** Tumor Necrosis Factor (παράγοντα νέκρωσης όγκων)
- RBD:** Receptor-Binding Domain (περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα)

PEG: Polyethylene glycol (πολυαιθυλενογλυκόλη)

RT-PCR: Real Time-Polymerase Chain Reaction (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο)

RLU: Relative Light Unit (σχετική μονάδα φωτός)

VAP: Ventilator Associated Pneumonia (πνευμονία σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα)

VITT: Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia (επαγόμενη από το εμβόλιο άνοση θρομβωτική θρομβοπενία)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κορωνοϊός σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου τύπου 2 (SARS-CoV-2) είναι ένας mRNA ιός που προκαλεί τη νόσο κορωνοϊού (COVID-19) με ποικίλα συμπτώματα που περιλαμβάνουν κυρίως πυρετό, ξηρό βήχα, δύσπνοια, κόπωση, απώλεια γεύσης και όσφρησης, ενώ μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές και ποικίλες συστηματικές εκδηλώσεις με κύριο όργανο-στόχο το αναπνευστικό σύστημα. Ο ιός μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο μέσω των σταγονιδίων του αναπνευστικού. Ο SARS-CoV-2 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά στην Κίνα τον Δεκέμβριο του 2019, ενώ το Μάρτιο του 2020, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ανακοίνωσε την εξάπλωση πανδημίας. Η πολυδιάστατη επιρροή της πανδημίας σε παγκόσμιο επίπεδο έχει στρέψει την επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση ασφαλών και αποτελεσματικών θεραπειών για την καταπολέμηση του ιού καθώς και εμβολίων για την πρόληψη της περαιτέρω μετάδοσής του. Το Δεκέμβριο του 2021 το πρώτο εμβόλιο κατά του κορωνοϊού πήρε έγκριση για κυκλοφορία στην Ευρώπη.

Το εμβόλιο της Pfizer BioNTech COVID-19 (BNT126b2) βασίζεται στην τεχνολογία του mRNA (αγγελιοφόρο ριβονουκλεϊκό οξύ). Το εμβόλιο περιέχει τη γενετική αλληλουχία για την πρωτεΐνη S (Spike protein) του ιού, μέσα σε ένα περίβλημα νανολιπιδίων που βοηθά στη μεταφορά του μέσα στο κύτταρο. Η πρωτεΐνη S βρίσκεται στην επιφάνεια του SARS-CoV-2 και κωδικοποιεί την ακίδα γλυκοπρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για την προσκόλληση του ιού στους υποδοχείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης τύπου 2 (ACE-2), οι οποίοι βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων της αναπνευστικής οδού. Μετά την έγχυση του εμβολίου, το mRNA εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα μεταφέροντας την γενετική πληροφορία. Μετά τον κυτταρικό θάνατο των προσβεβλημένων κυττάρων, οι σχηματισμένες ακίδες ή θραύσματα, προσλαμβάνονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και εκφράζονται στην επιφάνειά τους. Στη συνέχεια, θα ενεργοποιήσουν τα Β κύτταρα και θα αρχίσει η παραγωγή, ωρίμανση και διαφοροποίηση των αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S, τα οποία στόχο έχουν να εντοπίζουν και να καταστρέφουν τον ιό πριν προλάβει να εισέλθει στα κύτταρα (χυμική ανοσία). Ταυτόχρονα, αναμένεται να ενεργοποιηθούν τα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα και Τ λεμφοκύτταρα μνήμης για την ενίσχυση της ανοσιακής απάντησης και την παροχή χρόνιας ανοσίας (κυτταρική ανοσία).

Η μέτρηση των αντισωμάτων anti-SARS-CoV-2 IgG έναντι της πρωτεΐνης S (πρωτεΐνης της ακίδας) και έναντι της πρωτεΐνης N (αντισώματα έναντι του νουκλεοκαψιδίου), έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως κατά τη διάρκεια της πανδημίας. Μετά τη μόλυνση από SARS-CoV-2 αναμένεται να ανιχνευθούν αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης N και έναντι της πρωτεΐνης S, ενώ

μετά τον εμβολιασμό αναμένεται να ανιχνευθούν μόνο αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης S , αφού μόνο το m-RNA που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη της ακίδας περιέχεται στο εμβόλιο. Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων πραγματοποιείται με δύο τεχνικές: τον συνδεδεμένο με ένζυμο ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA) και την ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας (CLIA).

Λόγω της άμεσης ανάγκης ανοσοποίησης του πληθυσμού και ενόσω έχει ξεκινήσει ο εμβολισμός λίγα δεδομένα υπάρχουν αναφορικά με την αποτελεσματικότητα του εμβολίου όσον αφορά στη διάρκεια και στο είδος της ανοσίας (χυμική ή κυτταρική) που αυτό επιφέρει.

Σε κλινικές μελέτες του εμβολίου mRNA BNT162b2 σε ενήλικες οι οποίοι έλαβαν δύο δόσεις εμβολίου, περιγράφεται σαφώς υψηλότερος τίτλος IgG αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S σε σύγκριση με ασθενείς που νόσησαν από COVID-19. Αναμένεται η παραγωγή αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S μετά τον αρχικό εμβολιασμό μεταξύ 2ης έως 6ης εβδομάδας. Παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργητική ανοσοποίηση: ηλικία, φύλο, συννοσηρότητες και φαρμακευτική αγωγή, προϋπάρχουσα ανοσοκαταστολή- ανοσοανεπάρκεια και καπνιστική συνήθεια δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς.

Η προτεινόμενη μελέτη αποτελεί μια μελέτη παρατήρησης σκοπός της οποίας είναι η μέτρηση της επαγόμενης αντισωματικής- χυμικής απάντησης μετά τον εμβολιασμό με δύο δόσεις του εμβολίου COVID-19 mRNA BNT162b2 έναντι του SARS-COV-2. Η επιλογή των συμμετεχόντων θα είναι τυχαία και ανεξάρτητη των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών. Οι συμμετέχοντες θα είναι ενήλικες άνω των 18 ετών οι οποίοι θα εμβολιαστούν με δύο δόσεις του εμβολίου, κάθε δόση του οποίου περιέχει 0,3ml διαλυμένου φαρμάκου που θα χορηγηθεί σε μεσοδιάστημα 21ημερών. Δείγματα αίματος θα συλλεχθούν την ημέρα του πρώτου εμβολιασμού, στις 3 εβδομάδες, 6 εβδομάδες, 3 μήνες και 6 μήνες μετά τον εμβολιασμό. Η εκτίμηση των αντισωματικών απαντήσεων έναντι εμβολίου θα γίνει σε όλα τα άτομα που θα ενταχθούν στη μελέτη και θα αφορά σε όλα τα στάδια τον προσδιορισμός των IgG και IgA αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S με τη με τη μέθοδο της ELISA στο εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας και των αντισωμάτων N και των IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας στο εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας. Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι οι απαντήσεις έναντι του εμβολίου θα είναι πάντα anti-S, η πιθανή ανίχνευσή anti-N αντισωμάτων θα υποδηλώνει αντισωματική απάντηση μετά από μόλυνση από τον ιό SARS-CoV-2 και όχι απάντηση στο εμβόλιο.

Με τη χρήση των ως άνω μεθοδολογιών θα αξιολογηθούν: 1. η επαγόμενη χυμική ανοσία σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες, αλλά και σε άτομα με διαφορετικό νοσολογικό υπόστρωμα (π.χ. σε ασθενείς με χρόνια νοσήματα, όπως η αρτηριακή υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης και αυτοάνοσα νοσήματα), 2. το χρονικό διάστημα διατήρησης της χυμικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό, 3. η συσχέτιση της εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών με την ανάπτυξη ανοσιακής απάντησης, 4. κατά πόσο ο εμβολιασμός απέτρεψε την ενδεχόμενη μόλυνση και νόσο COVID-19, 5. οι διαφορές στην παραγωγή αντισωμάτων μεταξύ των συμμετεχόντων που νόσησαν και αυτών που δεν έχουν μολυνθεί από τον SARS-CoV-2.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

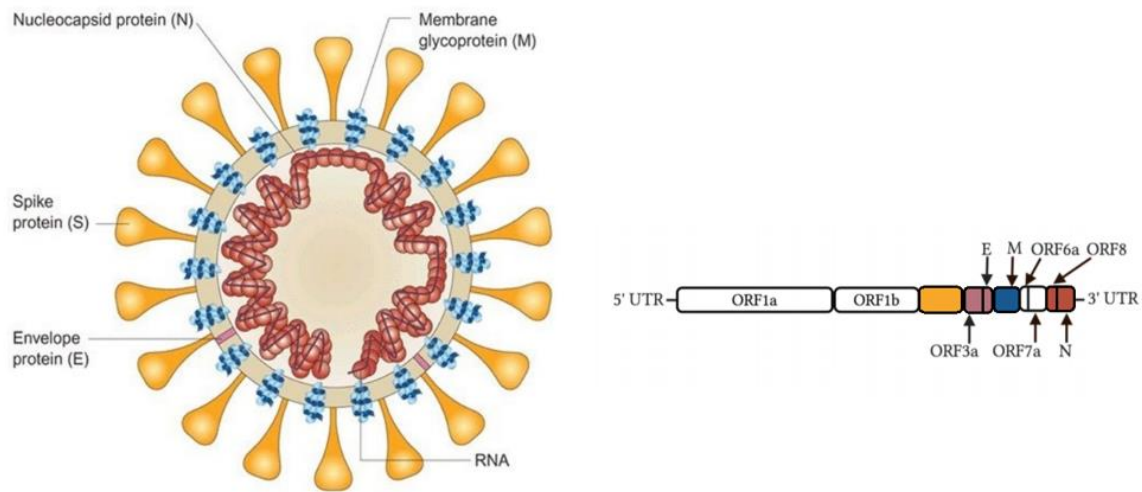
SARS-CoV-2

Στις 30 Δεκεμβρίου 2019, μια ομάδα ασθενών με πνευμονία αγνώστου αιτιολογίας παρατηρήθηκε στην Wuhan της Κίνας και αναφέρθηκε στον παγκόσμιο οργανισμό υγείας. Λίγες ημέρες αργότερα, το γονιδίωμα του νέου κορωνοϊού είχε αναγνωρισθεί, από την Κινεζική Ακαδημία Ιατρικής και μια εβδομάδα αργότερα, η αλληλουχία είχε δημοσιευθεί και κατατεθεί στην παγκόσμια τράπεζα γενετικών πληροφοριών (GenBank). Η Εθνική Επιτροπή Υγείας της Κίνας, ήδη, προειδοποιούσε για τον πιθανό κίνδυνο. Αρχικά, ο ιός αναφέρονταν ως ο νέος κορωνοϊός 2019 από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), αλλά στις 10 Φεβρουαρίου 2020 ονομάστηκε επισήμως κορωνοϊός σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου τύπου 2 (Severe Acute Respiratory Syndrome- Coronavirus-2, SARS-CoV-2), ενώ η νόσος που προκαλεί ονομάστηκε νόσος κορωνοϊού 2019 (Coronavirus Disease, COVID-19). Στις 20 Μαρτίου 2020 ο ΠΟΥ, ανησυχώντας από το υψηλά επίπεδα εξάπλωσης της επιδημίας, από τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων στους νοσούντες, αλλά και από τα ανησυχητικά επίπεδα ασυμπτωματικών κρουσμάτων έκρουσε τον κώδωνα του κινδύνου και κήρυξε την επιδημία ως πανδημία.

Δομή

Ο SARS-CoV-2 είναι ένας μονής αλυσού m-RNA ιός με καψίδιο, ο οποίος έχει στην εξωτερική επιφάνεια του ακίδες που του δίνουν τη χαρακτηριστική όψη στέμματος. Σύμφωνα με τη φυλογενετική ανάλυση του ιού, έχει 79% ομοιότητα στην γενετική αλληλουχία με τον SARS-CoV-1 και 96% ομολογία με το RATG13 κορωνοϊό, που προσβάλλει τις νυχτερίδες. Η ιδιαιτερότητα του SARS-CoV-2 είναι η ικανότητα της πρωτεΐνης της ακίδας να προσδένεται με μεγάλη συγγένεια στον υποδοχέα ACE-2 και μια περιοχή μεταξύ της υποομάδας S1 και S2 της πρωτεΐνης της ακίδας- περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα (Receptor-Binding Domain, RBD), η οποία αυξάνει την μολυσματική ικανότητα του ιού. [33]

Ο ιός αποτελείται από τέσσερις βασικές δομικές πρωτεΐνες τις εξής: ακίδας (spike-S), μεμβράνης (membrane-M), φακέλου ή περιβλήματος (envelope-E) και νουκλεοκαψιδίου (nucleocapsid-N). Το 1/3 του RNA γονιδιώματος του SARS-CoV-2 αποτελείται από γονίδια για τις τέσσερις δομικές πρωτεΐνες και οκτώ γονίδια για βοηθητικές πρωτεΐνες που εμποδίζουν την άμυνα του ξενιστή. Το μεγαλύτερο μέρος του υπόλοιπου γονιδιώματος, τα 2/3 αυτού, αποτελείται από γονίδια που κωδικοποιούν δύο πολυπρωτεΐνες που διαχωρίζονται σε 16 μικρότερες μη δομικές πρωτεΐνες (NSP), που βοηθούν στην αντιγραφή και επιμέλεια του γονιδιώματος. [ΕΙΚΟΝΑ 1]



ΕΙΚΟΝΑ 1 Σχηματική απεικόνιση του ιού SARS-CoV-2 (αριστερά). Απεικονίζονται οι πρωτεΐνες: νουκλεοκαψιδίου(N), μεμβρανική (M), φακέλου (E), ακίδας (S) και το γενετικό υλικό (RNA) . Γονιδίωμα του ιού SARS-CoV-2 (δεξιά). Απεικονίζονται τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs) του ιού και των βασικών πρωτεϊνών του.

Πηγή: A review on Promising vaccine development progress for COVID-19 disease. Elsevier; 2020; DOI: 10.1016/j.vacun.2020.05.002

Το γονιδίωμα του SARS-CoV2 κωδικοποιεί 12 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs). Τα ORF1a και ORF1b κωδικοποιούν τις πολυπρωτεΐνες, που εμπεριέχουν τις μη δομικές πρωτεΐνες. Το ORF4 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του φακέλου και το ORF5 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη της μεμβράνης, μαζί συντονίζουν την συναρμολόγηση και την απελευθέρωση του ιού. Το ORF9 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του νουκλεοκαψιδίου και το ORF2 την πρωτεΐνη της ακίδας.

Ο ιός SARS-CoV-2 προσκολλάται στα ανθρώπινα κύτταρα, μέσω της πρωτεΐνης της ακίδας και συνδέεται με μεγάλη συγγένεια στον υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE-2) των ανθρώπινων κυττάρων. Η πρωτεΐνη S λειτουργικά διαχωρίζεται στην S1 υποομάδα, που είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση στον ACE-2 υποδοχέα και στην S2 υποομάδα που είναι υπεύθυνη για την συγχώνευση με την κυτταρική μεμβράνη. Η περιοχή δέσμευση του υποδοχέα (RBD) της πρωτεΐνης της ακίδας μεσολαβεί στην αναγνώριση του ACE-2 υποδοχέα. Οι υποδοχείς ACE-2 είναι παρόντες σε πολλά είδη κυττάρων του ανθρώπινου οργανισμού και συγκεκριμένα υπάρχουν στα εξής όργανα: οσφρητικό επιθήλιο, πνεύμονες, καρδιά, ήπαρ, έντερο, νεφρούς, αγγεία και λιπώδη ιστό. Αυτά τα ανθρώπινα κύτταρα περιέχουν την TMPRSS2 πρωτεάση της σερίνης ή τη φουρίνη, οι οποίες είναι απαραίτητες για την πρόσδεση της πρωτεΐνης της ακίδας και την είσοδο του SARS-CoV-2 στα κύτταρα.

Είσοδος στον ξενιστή

Καθώς ο ιός προσκολλάται στον ACE-2 υποδοχέα, η πρωτεάση TMPRSS2 μεσολαβεί ώστε η πρωτεΐνη της ακίδας να εκφράσει ένα πεπτιδίο σύντηξης. Ο ιός έπειτα είναι ικανός να εισέλθει στα ανθρώπινα κύτταρα και να απελευθερώσει το RNA εντός των μολυσμένων κυττάρων και στη συνέχεια να αντιγραφεί και να μεταφραστεί ώστε να παράγει νέες ιικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του νουκλεοκαψιδίου (N) αρχικά προσδένονται στο RNA και στη συνέχεια περιβάλλονται από τις πρωτεΐνες του φακέλου, της ακίδας και της μεμβράνης για να σχηματίσουν νέους SARS-CoV-2 ιούς. Τα μολυσμένα κύτταρα μπορούν να παράγουν 100 με 1000 νέους ιούς.

Ιστορία

Ο τρόπος με τον οποίο ο SARS-CoV-2 έγινε μεταδοτικός στον άνθρωπο δεν είναι γνωστός, ωστόσο δύο είναι οι επικρατούσες θεωρίες. Η πρώτη αφορά στην φυσική επιλογή σε ένα ξενιστή-ζώο πριν τη ζωνόσο μετάδοση του στον άνθρωπο και η δεύτερη αφορά στην φυσική επιλογή σε ένα ξενιστή-άνθρωπο μετά τη ζωνόσο μετάδοση. [57]

Η πρώτη θεωρία είναι πιθανή καθώς διαφορετικοί κορωνοϊοί έχουν τη δυνατότητα να ανταλλάσσουν τμήματα γονιδίων εντός του ίδιου ξενιστή. Μία νυχτερίδα, θα μπορούσε ταυτόχρονα να μολυνθεί με έναν ιό όπως ο RATG13 και έναν ακόμη κορωνοϊό, και ο πρώτος να αποκτήσει μια περιοχή πρόσδεσης του υποδοχέα (RBD) πιο ειδική για τη μετάδοση στον άνθρωπο. Σε αυτή τη θεωρία, ο ιός θα είχε επεκταθεί ταχέως καθώς του δίνεται η δυνατότητα να εξελιχθεί πολύ γρήγορα και να είναι πολύ μεταδοτικός.

Στη δεύτερη θεωρία, μια μη παθογόνος εκδοχή του ιού μεταπηδά από ένα ξενιστή-ζώο στον άνθρωπο και μετά εξελίσσεται στην τωρινή παθογόνο μορφή του. Για παράδειγμα, ένα κορωνοϊός που προσβάλλει τους μυρμηκοφάγους έχει μια RBD δομή σχεδόν πανομοιότυπη με αυτή του SARS-CoV-2. Ένας κορωνοϊός μυρμηκοφάγου θα μπορούσε να μεταδοθεί στον άνθρωπο, καθώς τα ζώα αυτά θεωρούνται πολύ σημαντικά στην κινέζικη ιατρική και πωλούνται στις αγορές της Wuhan, εκεί όπου αναφέρθηκαν πολλά από τα πρώτα κρούσματα SARS-CoV-2.

Μια πιο προκλητική θεωρία υποστηρίζει ότι ο SARS-CoV-2 δημιουργήθηκε στο Ινστιτούτο Ιολογίας της Wuhan, ένα εργαστήριο που εξειδικεύεται στην έρευνα των κορωνοϊών που προσβάλλουν νυχτερίδες. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, είτε ατυχηματικά είτε από πρόθεση, ο ιός μεταδόθηκε στην γύρω κοινότητα. Παρόλο που στο εργαστήριο μελετάται η ανασύνθεση γονιδίων για να ελεγχθεί η μεταδοτικότητα τους στα ανθρώπινα κύτταρα, θεωρείτε σχεδόν απίθανο από τους

ειδικούς να έγινε εφικτό ο SARS-CoV-2 να αποκτήσει τις ξεχωριστές του ιδιότητες σε κυτταροκαλλιέργειες. Ωστόσο, ενώ σε τέτοια εργαστήρια υπάρχουν αυστηρά πρωτόκολλα ασφαλείας, έχουν αναφερθεί επιδημίες προερχόμενες από εργαστήρια στο παρελθόν. Πολλοί επιστήμονες εκφράζουν ανησυχίες αναφορικά με επερχόμενες πανδημίες προερχόμενες από εργαστήρια λόγω της μεγάλης ενασχόλησης των βιολόγων με πειράματα σε κορωνοϊούς.

Επιδημιολογία

Περισσότερα από 165 εκατομμύρια κρούσματα και 3,5 εκατομμύρια θάνατοι έχουν καταγραφεί παγκοσμίως, στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί 388 χιλιάδες κρούσματα και 11,5 χιλιάδες απώλειες ως τα τέλη Μαΐου 2021 σύμφωνα με τον Εθνικό Οργανισμό Δημόσιας Υγείας. Η θνητότητα από τον SARS-CoV-2 υπολογίζεται παγκοσμίως περίπου 5%, αλλιώς ένας στους 20 θετικούς πεθαίνει από τη νόσο COVID-19.

Κλινική εικόνα

Ο ιός μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο, μέσω των σταγονιδίων του αναπνευστικού. Η περίοδος επώασης μέχρι την έναρξη των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 ποικίλλει από 1 έως 14 ημέρες, με διάμεσο χρόνο 5-7 ημέρες. Τα κύρια συμπτώματα περιλαμβάνουν πυρετό, ξηρό βήχα, δύσπνοια, απώλεια γεύσης και όσφρησης, φρίκια, αδυναμία-καταβολή, μυαλγίες, αρθραλγίες, πονόλαιμο, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετο, διάρροιες, δερματικά εξανθήματα, πόνος στο θώρακα και διαταραχές επιπέδου συνείδησης. Η νόσος COVID-19 μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές και ποικίλες συστηματικές εκδηλώσεις με κύριο όργανο-στόχο το αναπνευστικό σύστημα. [34]

Το φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων της COVID-19 ποικίλλει από ασυμπτωματική λοίμωξη ή ήπια συμπτωματολογία από το ανώτερο αναπνευστικό έως σοβαρή νόσο με πολυεστιακή πνευμονία, αναπνευστική ανεπάρκεια, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο. Το 80% των ασθενών θα αναπτύξει ήπια ως μέτρια νόσο, το 15% θα αναπτύξει σοβαρή νόσο που θα χρειαστεί νοσηλεία και οξυγονοθεραπεία, ενώ το 5% θα χρειαστεί μηχανικό αερισμό σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Οι ασθενείς θα αναπτύξουν πνευμονία εντός της πρώτης εβδομάδας από την έναρξη της νόσου, θα χρειαστούν νοσηλεία μεταξύ 9-12 ημέρας νόσου, ενώ θα εξέλθουν από το νοσοκομείο περίπου 25 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων.

Εργαστηριακά και απεικονιστικά ευρήματα

Τα κυριότερα ευρήματα που υποδηλώνουν σοβαρή νόσο και ανάγκη νοσηλείας περιλαμβάνουν την ταχύπνοια (>30 αναπνοές/λεπτό), υποξυγοναιμία- $\text{SaO}_2 < 94\%$, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg, διηθήματα $>50\%$ του πνευμονικού παρεγχύματος από τον απεικονιστικό έλεγχο.

Τα συνηθέστερα εργαστηριακά ευρήματα περιλαμβάνουν λεμφοπενία (70%), αύξηση της CRP (60%), παράταση του χρόνου προθρομβίνης (60%), αυξημένη γαλακτική αφυδρογονάση LDH (40%), αυξημένα ηπατικά ένζυμα SGOT και SGPT (20%). Προγνωστικοί δείκτες σοβαρής νόσου αποτελούν τα αυξημένα D-dimers $>1000\text{ng/ml}$, φερριτίνη $>300\mu\text{g/L}$, $\text{LDH} > 245\text{IU/L}$, απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων <800 , ουδετερόφιλα/λεμφοκύτταρα >3 , αιμοπετάλια $<35.000/\mu\text{L}$ και αυξημένη τροπονίνη.

Κυριότερα απεικονιστικά ευρήματα στην αξονική τομογραφία θώρακα ή ακτινογραφία θώρακος είναι η εικόνα πνευμονίας, με συχνά αμφοτερόπλευρα διάχυτα διηθήματα κυψελιδικού ή διάμεσου τύπου (60%), εικόνα θολής υάλου, οζώδεις σκιάσεις και εικόνα δίκην πλακόστρωτου συνήθως με περιφερική κατανομή. [37]

Παράγοντες κινδύνου

Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου COVID-19 είναι οι εξής: προχωρημένη ηλικία >65 έτη, ανδρικό φύλο, αυξημένος δείκτης μάζας σώματος (BMI) και συννοσηρότητες (σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, αρτηριακή υπέρταση, στεφανιαία νόσος, χρόνια νεφρική ή ηπατική ή πνευμονική νόσος, καρκίνος (αιματολογικός ή συμπαγών οργάνων), ανοσοκαταστολή ή μεταμόσχευση). Φαίνεται ότι στις παραπάνω καταστάσεις υπάρχει αργή ανοσιακή απάντηση και μείωση του λειτουργικού αποθέματος, που και τα δύο είναι απαραίτητα για την αντιμετώπιση μιας πολυοργανικής νόσου. Επίσης γενετικοί παράγοντες φαίνεται να παίζουν ρόλο στην ανοσιακή απάντηση (χαμηλή ανοσιακή απάντηση στον SARS-CoV-2 δε συνεπάγεται απαραίτητως χαμηλή απάντηση και σε οποιοδήποτε άλλο μικροοργανισμό, αλλά σχετίζεται κάθε φορά με το είδος της ενεργοποιούμενης χυμικής και κυτταρικής απάντησης). Η ομάδα αίματος O φαίνεται να παρεμποδίζει την είσοδο του ιού στα κύτταρα, γιατί τα anti-A αντισώματα μπλοκάρουν τον υποδοχέα ACE II και κατ' επέκταση τη δέσμευση της ακίδας. [32],[33]

Επιπλοκές

Σοβαρές επιπλοκές από τη νόσο COVID-19 προκύπτουν λόγω του συνδρόμου ενεργοποίησης των κυτταροκινών, «καταιγίδα κυτταροκινών», όπου υπάρχει ανεξέλεγκτη παραγωγή

προφλεγμονωδών κυτταροκινών πρώιμης απάντησης, συμπεριλαμβανομένων των ιντερλευκινών IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 και του παράγοντα νέκρωσης όγκων TNFα. Οι κυριότερες επιπλοκές περιλαμβάνουν από το αναπνευστικό σύστημα: σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) και ως συνέπεια αναπνευστική ανεπάρκεια, από το καρδιαγγειακό σύστημα: αρρυθμίες, μυοκαρδιακή βλάβη, καρδιακή ανεπάρκεια και καταπληξία (shock). Βλάβες των επιθηλιακών κυττάρων οδηγούν σε οξεία σωληναριακή νέκρωση και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Άλλες σοβαρές επιπλοκές περιλαμβάνουν θρομβοεμβολικά επεισόδια (εν το βάθει φλεβοθρόμβωση, πνευμονική εμβολή) και αρτηριακές θρομβώσεις συμπεριλαμβανομένων εγκεφαλικών επεισοδίων και ισχαιμία άκρων. Νευρολογικές επιπλοκές: εγκεφαλοπάθεια, διαταραχές κινητικότητας και αισθητικότητας, αταξία και επιληπτικές κρίσεις. Ψυχιατρικές επιπλοκές: κατάθλιψη, φοβίες που αφορούν τη νόσο COVID-19 (κορωνοφοβικό άγχος). Τέλος, στα παιδιά έχει περιγραφεί ένα πολυσυστηματικό φλεγμονώδες σύνδρομο (MISC) με κλινικές εκδηλώσεις όμοιες του συνδρόμου Kawasaki και του συνδρόμου τοξικού shock. [42], [43]

Μετάδοση

Η μετάδοση του ιού υπολογίζεται με τον παράγοντα R, το βασικό αριθμό αναπαραγωγής του ιού. Αναφέρεται ως R_0 , ο μέσος όρος των ανθρώπων που θα μολύνει κάποιος που φέρει τον ιό. Όσο μεγαλύτερο το R_0 , τόσο γρηγορότερα μεταδίδεται μία πανδημία. Στην αρχή της πανδημίας το R_0 του SARS-CoV-2 υπολογιζόταν στο 2-2,5, εκτιμώντας ότι ένας άνθρωπος θα μεταδώσει τον ιό σε δύο περίπου ακόμη ανθρώπους, οδηγώντας στον διπλασιασμό των περιστατικών COVID-19 σε 3-6 ημέρες.

Ο ιός μεταδίδεται πρωτίστως μέσω σταγονιδίων διαμέτρου 5-10μm, που απελευθερώνονται όταν ένα μολυσμένο άτομο από τον ιό SARS-CoV-2 βήξει ή φτερνιστεί ή μιλήσει ή ακόμα όταν εκπνεύσει. Τα αερομεταφερόμενα σταγονίδια προσκολλώνται στο βλεννογόνο του αναπνευστικού συστήματος ή στον επιπεφυκότα ενός άλλου ατόμου. Επιπροσθέτως, επικάθονται σε επιφάνειες και μεταφέρονται σε άλλο άτομο μέσω της επαφής. Ο SARS-CoV-2 επιβιώνει περισσότερο σε πλαστικές και ατσάλινες επιφάνειες (ως 3 ημέρες) και λιγότερο σε επιφάνειες από χαρτί ή χαλκό (ως 1 ημέρα). Η ιική μετάδοση είναι πιθανή αν κάποιος έρθει σε επαφή με μολυσμένη επιφάνεια και στη συνέχεια αγγίξει το πρόσωπο του. Η μετάδοση μπορεί επίσης να συμβεί μέσω μικρότερων σταγονιδίων-αερολύματα διαμέτρου λιγότερο από 5μm. Ο SARS-CoV-2 παραμένει ζωντανός σε αυτά τα σωματίδια για περισσότερο από 3 ώρες. Αυτός ο τρόπος μετάδοσης είναι ο κύριος τρόπος μετάδοσης στο υγειονομικό προσωπικό κατά τη διάρκεια επεμβατικών διαδικασιών όπως η ενδοτραχειακή διασωλήνωση, η βρογχοσκόπηση, η αναρρόφηση, η εναλλαγή θέσης από ύπτια σε

πρηνή και η αποσωλήνωση. Η μετάδοση εξαρτάται τόσο από τη δόση των εισπνεόμενων σταγονιδίων όσο και από το χρόνο και την απόσταση έκθεσης. [57]

Μέθοδοι ανίχνευσης

RT-PCR

Η μέθοδος εκλογής για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 και τη διάγνωση της νόσου COVID-19 είναι η RT-PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο)-μοριακός έλεγχος. Οι δοκιμασίες RT-PCR ανιχνεύουν συνδυασμούς γονιδίων του ιού, είτε των δομικών πρωτεϊνών (νουκλεοκαψιδίου ή φακέλου) είτε του RNA του ιού. Το όριο ανίχνευσης των περισσότερων δοκιμασιών είναι 100 αντίγραφα ιού/mL ή περισσότερα. Το ικό φορτίο είναι μεγαλύτερο τις 5-6 πρώτες ημέρες της νόσου και συνεχίζει να ανιχνεύεται με μικρότερο φορτίο και τη δεύτερη εβδομάδα της νόσου. Το καταλληλότερο δείγμα για RT-PCR είναι το ρινοφαρυγγικό επίχρισμα. [35]

Παρά την αυξημένη ευαισθησία της μεθόδου, η αρνητική PCR δεν μπορεί να αποκλείσει την νόσο σε υψηλής υποψίας ασθενείς. Ο χρόνος συλλογής του δείγματος, η προέλευση, η ποιότητα και η μέθοδος δειγματοληψίας επηρεάζουν την ακρίβεια του αποτελέσματος. Για το λόγο αυτό, επί ισχυρής υποψίας λοίμωξης COVID-19 συνιστάται επανάληψη ένα 24ωρο μετά. Τέλος, συνιστάται λήψη βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος σε ασθενείς με πολλαπλά αρνητικά ρινοφαρυγγικά δείγματα και ισχυρή υποψία, με χαρακτηριστικά σοβαρής ή προοδευτικής νόσου. Οι περισσότεροι ασθενείς με μέτρια νόσο αρνητικοποιούνται στις 10 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, ενώ οι ασθενείς με σοβαρή νόσο παραμένουν θετικοί κατά μέσο όρο 20 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων. Τέλος, ασθενείς που έχουν αναρρώσει από COVID-19 παρατηρήθηκε ότι μπορεί να έχουν θετική PCR ως και μήνες μετά τη διάγνωση, ως εξήγηση σε αυτό πιθανολογείται η ανίχνευση από τη μοριακή μέθοδο ιχνών, υπολειμμάτων του ιού.

Rapid Ag

Με την μέθοδο της ταχείας ανίχνευσης του αντιγόνου του ιού SARS-CoV-2 (Rapid Ag COVID-19 test) ανιχνεύεται η παρουσία ιικής πρωτεΐνης (αντιγόνου) του ιού σε δείγματα από το ανώτερο αναπνευστικό. Αν το αντιγόνο-στόχος βρίσκεται σε επαρκή ποσότητα στο δείγμα, θα συνδεθεί στο ειδικό αντιγόνο που βρίσκεται πάνω στην ταινία της πλαστικής κασέτας και θα γίνει ορατό ως γραμμή (ανάλογα με το κιτ) εντός 15 με 30 λεπτών.

Τα τεστ ταχείας ανίχνευσης αντιγόνου διαφέρουν ως προς την ευαισθησία και την ειδικότητα τους. Σε ασθενείς με σημεία και συμπτώματα συμβατά με λοίμωξη COVID-19, η ευαισθησία είναι μεγαλύτερη την πρώτη εβδομάδα νόσου, όπου και το υικό φορτίο είναι μεγαλύτερο. Δοκιμασίες που πληρούν ορισμένα κριτήρια (ευαισθησία $\geq 80\%$ και ειδικότητα $\geq 97\%$), μπορούν να αντικαταστήσουν σε ειδικές συνθήκες την RT-PCR, όταν πρέπει να ληφθούν γρήγορες αποφάσεις σχετικά με τη φροντίδα του ασθενούς ή όταν η μοριακή μέθοδος δε μπορεί να πραγματοποιηθεί σε εύλογο χρονικό διάστημα. Το τεστ αντιγόνου χρησιμοποιείται στην περίοδο της πανδημίας ως μέθοδος screening του γενικού πληθυσμού και ειδικότερα σε πληθυσμούς με υψηλό επιδημιολογικό κίνδυνο διασποράς της λοίμωξης και δίνει τη δυνατότητα γρήγορης παροχής πληροφοριών ωστόσο συνιστάται μοριακός έλεγχος μετά το θετικό τεστ αντιγόνου για την επιβεβαίωση του αποτελέσματος. Το αρνητικό τεστ αντιγόνου δεν αποκλείει τη νόσο από COVID-19. [ΕΙΚΟΝΑ 2]

Πρόσφατα στη φαρέτρα των τεστ ανίχνευσης αντιγόνων προστέθηκαν τα self-test, με μικρή ευαισθησία και ειδικότητα, πραγματοποιούνται από το ίδιο το άτομο. Παρά τα μειονεκτήματα της μεθόδου η δυνατότητα μαζικής χρήσης στον πληθυσμό δίνει τη δυνατότητα επαγρύπνησης και περιορισμού της διασποράς στις συνθήκες πανδημίας.

Έλεγχος αντισωμάτων

Τα ορολογικά τεστ ανιχνεύουν τα αντισώματα που παράγονται μετά από τη λοίμωξη από COVID-19. Η παραγωγή αντισωμάτων (χυμική ανοσία) έναντι του COVID-19 φαίνεται ότι ξεκινά περίπου μία εβδομάδα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Τα IgM αντισώματα ξεκινούν να παράγονται ίσως λίγο νωρίτερα από τα IgG και διατηρούνται για περίπου 6 εβδομάδες, ενώ τα IgG αντισώματα φαίνεται να διατηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, χωρίς αυτό να μπορεί να οριστεί ακριβώς.

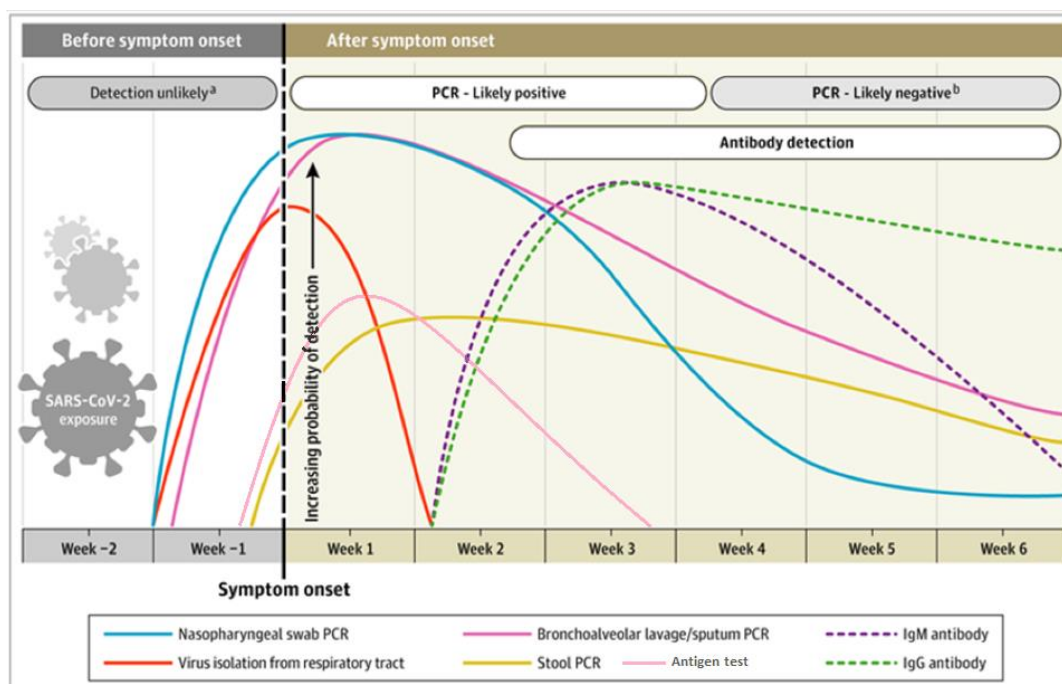
Τα διάφορα kit ανοσοδοκιμασιών που κυκλοφορούν διαφέρουν ως προς την τάξη των αντισωμάτων που ανιχνεύουν (IgM: ανοσοσφαιρίνη M-δείκτης πρόσφατης έκθεσης στο αντιγόνο-πρόσφατης λοίμωξης, IgG: ανοσοσφαιρίνη G-διατηρούνται για καιρό μετά την έκθεση στο αντιγόνο-κύριες ανοσοσφαιρίνες της δευτερογενούς απόκρισης, IgA: ανοσοσφαιρίνη A- κύριες ανοσοσφαιρίνες των βλεννογόνων του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος).

Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων πραγματοποιείται με δύο τεχνικές: τον συνδεδεμένο με ένζυμο ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA) και την ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας (CLIA). Τα διάφορα kit διαφέρουν ως προς την ευαισθησία και ειδικότητα τους. Τα kit που χρησιμοποιούν

ELISA φαίνεται να είναι περισσότερο ευαίσθητα, δηλαδή ανιχνεύουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα πραγματικά θετικά δείγματα και προτιμώνται για την αξιολόγηση της νόσου και της πορείας σε συμπτωματικούς ασθενείς, ενώ τα kit χημειοφωταύγειας φαίνεται να είναι πιο ειδικά- υπάρχουν λιγότερα ψευδώς θετικά αποτελέσματα και προτιμώνται ως μέθοδος ανίχνευσης (screening) ασυμπτωματικών ασθενών. Ωστόσο όποια ανοσοδοκιμασία και αν χρησιμοποιηθεί φαίνεται ότι η ευαισθησία όλων των μεθόδων αυξάνεται όταν τα δείγματα ληφθούν μετά την 15 ημέρα από την έναρξη των συμπτωμάτων. [36]

Επίσης τα διαθέσιμα kit ανιχνεύουν αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης S (ακίδα) ή έναντι της περιοχής πρόσδεσης του υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης της ακίδας RBD ή έναντι της πρωτεΐνης N (νουκλεοκαψίδιο) συνδυαστικά ή χωριστά. Τόσο η μέτρηση των αντισωμάτων anti-SARS-CoV-2 έναντι της πρωτεΐνης S όσο και έναντι της πρωτεΐνης N, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως κατά τη διάρκεια της πανδημίας για την διάγνωση συμπτωματικών ασθενών που καθυστέρησαν να ελεγχθούν και είχαν αρνητική PCR και την αναγνώριση ασθενών που ανάρρωσαν και είχαν αντισωματική απάντηση και οι οποίοι μπορούν να γίνουν δωρητές πλάσματος για τη θεραπεία νοσούντων από covid-19. Ακόμη, ο έλεγχος αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιδημιολογικές μελέτες επιτήρησης της νόσου, για την καλύτερη μέτρηση του επιπολασμού και της επίπτωσης της νόσου, καθώς πολύ ασθενείς παραμένουν ασυμπτωματικοί με αποτέλεσμα να υποεκτιμώνται οι δείκτες αυτοί. Τέλος, η μέτρηση των αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιβεβαίωση της αντισωματικής απάντησης και της προστασίας μετά τον εμβολιασμό έναντι του COVID-19. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης N θεωρούνται πιο ευαίσθητα καθώς παράγονται έναντι αυτής της πρωτεΐνης που υπάρχει σε μεγαλύτερη αφθονία στον ιό, ενώ τα αντισώματα S είναι πιο ειδικά, καθώς η RBD-S είναι ειδική πρωτεΐνη πρόσδεσης του ξενιστή και έχει συσχετιστεί με τη βαρύτητα της νόσου. [36]

Το test αντισωμάτων δεν ενδείκνυται για τη διάγνωση της οξείας COVID-19 λοίμωξης. Οι ασθενείς με συμπτωματική νόσο, συνήθως παράγουν αντισώματα μετά τη 10^η ημέρα από την έναρξη των συμπτωμάτων. Καθώς επίσης αντισώματα μπορεί να μην ανιχνεύονται-παράγονται σε ανοσοκατεσταλμένους ή ηλικιωμένους ασθενείς μετά από νόσηση από COVID-19. Η παρουσία αντισωμάτων δεν εγγυάται ανοσία, είναι ακόμα άγνωστο πόσο καιρό διατηρούνται στον οργανισμό και δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητό κατά πόσον ο τίτλος ή το είδος των αντισωμάτων καθορίζει την εξουδετερωτική τους ικανότητα και την προστασία από επαναλοίμωξη. Τέλος, η μέτρηση των αντισωμάτων δεν πρέπει να χρησιμοποιείται ως δείκτης για την επιστροφή στην καθημερινότητα μετά τη λοίμωξη ούτε για τη χρήση των μέτρων ατομικής προστασίας.



ΕΙΚΟΝΑ 2 Απεικονίζονται οι χρονικές περίοδοι, όπου ανιχνεύεται ο ιός SARS-CoV-2 μέσω διαγνωστικών τεστ (PCR, αντισώματα IgM και IgG, τεστ αντιγόνου), διαφορετικής προσέλευσης και διαγνωστικής αξίας.
Πηγή: jvp200101_featured.jpeg (jamanetwork.com)

Απομόνωση

Κατά τη διάρκεια της πανδημίας έχουν εφαρμοστεί μέτρα κοινωνικής απομόνωσης (lock down), για την επιβράδυνση της εξάπλωσης της νόσου. Αυτοαπομόνωση των νοσούντων και των επαφών τους για 14 ημέρες (όσο είναι το χρονικό διάστημα της μόλυνσης και της μετάδοσης του SARS-CoV-2). Επίσης, έχει εφαρμοστεί η χρήση μέτρων ατομικής προστασίας για την επαφή με θετικούς ασθενείς και η χρήση χειρουργικών масκών σε όλους τους δημόσιους χώρους. Τέλος, η υγιεινή των χεριών, ο καθαρισμός επιφανειών και ο αερισμός και φιλτράρισμα των χώρων εφαρμόζονται για τον περιορισμό της μετάδοσης του SARS-CoV-2.

Θεραπεία

Η θεραπεία έναντι της λοίμωξης COVID-19 είναι αρχικά υποστηρικτική. Θρομβοπροφύλαξη σύμφωνα με το σωματικό βάρος και τη νεφρική λειτουργία χορηγείται σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για θρομβοεμβολικά επεισόδια λόγω της αυξημένης θρομβογονικότητας του ιού. Επιπροσθέτως, εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή μπορεί να χορηγηθεί σε αυξημένη υποψία βακτηριακής επιλοίμωξης, αναλόγως του είδους της πνευμονίας (κοινότητας, σχετιζόμενης με τη

νοσηλεία ή με τον αναπνευστήρα HAP/VAP). Το αντικό φάρμακο ρεμντεσιβίρη (200 mg δόση φόρτισης και ακολούθως 100 mg άπαξ ημερησίως για 4 επιπλέον ημέρες), το οποίο αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του ιού, συνδέοντας στην RNA-πολυμεράση, έχει πάρει έγκριση σε νοσηλευόμενους ασθενείς, εντός 10 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων. Η δεξαμεθαζόνη χορηγείται για την καταστολή της ανεξέλεγκτης φλεγμονώδους απάντησης σε νοσηλευόμενους ασθενείς (6mg άπαξ ημερησίως για 10 ημέρες ή ως το εξιτήριο). Επιπλέον, γνωρίζοντας σε ποια στάδια της ανοσιακής απάντησης παρεμβαίνει ο ιός και τον τρόπο που την εκτρέπει, διάφορες ανοσοπαρεμβάσεις έχουν προταθεί για τη θεραπεία του SARS-CoV2. Αντισώματα έναντι των κυτταροκινών όταν αρχίζει η καταιγίδα των κυτταροκινών [anti-IL-6 (tocilizumab) , anti-IL-1 (anakinra) , anti-TNFα] και ενδοφλέβια χορηγούμενη ανοσοσφαιρίνη G, ως ανοσοτροποποιητής της ανοσιακής απάντησης που έχει εκτραπεί. Στην τελική φάση της νόσου όπου τα εξουδετερωτικά αντισώματα ανεπαρκούν, ο χορήγηση πλάσματος από άτομο που ανάρρωσε από τη νόσο μπορεί να καλύψει αυτή την ανεπάρκεια. Χορήγηση οξυγόνου με ρινικό καθετήρα υψηλής ροής (HFNC) συνιστάται σε ασθενείς σε υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια που δεν ανταποκρίνονται στη χορήγηση συμβατικής οξυγονοθεραπείας, μηχανικός αερισμός με χαμηλό αναπνεόμενο όγκο (VT 6mL/kg του προβλεπόμενου βάρους σώματος) συνιστάται στους ασθενείς με αναπνευστική ανεπάρκεια που χρήζουν μηχανικό αερισμό και εναλλαγή των θέσεων από ύπτια σε πρινή (για τουλάχιστον 12-16 ώρες την ημέρα). Σε ασθενείς με εμμένουσα υποξυγοναιμία παρά το μηχανικό αερισμό συνιστάται εξωσωματική μεμβρανική οξυγόνωση (ECMO) και τέλος σε ασθενείς με οξεία νεφρική βλάβη συνιστάται θεραπεία συνεχούς νεφρικής κάθαρσης (CRRT) ή παρατεταμένη διακοπτόμενη υποκατάσταση όταν η CRRT δεν είναι διαθέσιμη. [5]

Εμβόλια

Η πολυδιάστατη επιρροή της πανδημίας σε παγκόσμιο επίπεδο έχει στρέψει την επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση ασφαλών και αποτελεσματικών θεραπειών για την καταπολέμηση του ιού καθώς και εμβολίων για την πρόληψη της περαιτέρω μετάδοσής του. Στη μάχη για την καταπολέμηση της πανδημίας COVID-19, έχουν επιστρατευτεί όλα τα δυνατά μέσα για την πρόληψη και την θεραπεία της νόσου, ωστόσο έγινε γρήγορα αντιληπτό ότι κανένα μέτρο αποστασιοποίησης και προστασίας ή φάρμακο δεν είναι ικανό για την επίτευξη ανοσίας της κοινότητας. Έτσι τον τελευταίο χρόνο, δοκιμάζονται πάνω από 200 εμβόλια, σε περισσότερες από 90 κλινικές δοκιμές, ενώ ήδη έχουν πάρει έγκριση για κυκλοφορία 14 εμβόλια. Το Δεκέμβριο του 2020 το πρώτο εμβόλιο κατά του κορωνοϊού πήρε έγκριση για κυκλοφορία στην Ευρώπη και στην Ελλάδα.

Ένα εμβόλιο για να είναι αποτελεσματικό θα πρέπει να μειώνει την πιθανότητα μόλυνσης, τη βαρύτητα νόσησης αλλά και το ρυθμό μετάδοσης στον πληθυσμό. Ο βασικότερος στόχος είναι να προστατεύει από τη βαριά νόσο και τη θνητότητα. Η επίτευξη ικανοποιητικής ανοσίας, εξαρτάται σε ατομικό επίπεδο από την ηλικία, το φύλο, τη φυλή και τα υποκείμενα νοσήματα, ενώ σε επίπεδο πληθυσμού εξαρτάται από τη μεταδοτικότητα του ιού, την αποτελεσματικότητα σε μεγάλες ηλικιακές ομάδες και το ποσοστό της πληθυσμιακής κάλυψης. [57]

Βασική αρχή του εμβολιασμού είναι να χορηγηθεί ένα αντιγόνο έναντι του οποίου θα δημιουργηθεί πρωτογενής ανοσιακή απάντηση, η οποία θα καταλείπει κύτταρα μνήμης, ώστε σε περίπτωση που το άτομο μολυνθεί, να αναπτύξει δευτερογενή προστατευτική απάντηση. Τα εμβόλια έναντι του SARS-CoV-2 στοχεύουν στην ανάπτυξη ανοσιακής απάντησης έναντι της πρωτεΐνης S του ιού, ώστε να παρεμποδίζεται η είσοδος του ιού στο κύτταρο, να δημιουργηθούν δηλαδή αντισώματα που θα μπλοκάρουν την είσοδο του ιού, και να παραμείνουν T και B λεμφοκύτταρα μνήμης που σε ενδεχόμενη μελλοντική μόλυνση θα φτιάξουν αντισώματα με ταχύτατη ισχυρή δράση. Όλα τα εμβόλια στοχεύουν σε ένα αντιγόνο του ιού που δε θα προκαλέσει ασθένεια, αλλά θα προκαλέσει μια ανοσοαπάντηση που μπορεί να εμποδίσει ή να σκοτώσει τον ιό, αν στο μέλλον το άτομο μολυνθεί. [56]

Κλινικές δοκιμές

Όλα τα εμβόλια πριν εγκριθούν ελέγχονται για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους βάσει αυστηρών επιστημονικών μεθόδων που έχουν εγκριθεί από ανεξάρτητη επιστημονική κοινότητα και βάσει είδη δοκιμασμένων τεχνολογιών. Κάθε εμβόλιο, πριν εγκριθεί για χρήση στο γενικό πληθυσμό, θα πρέπει να έχει περάσει από κλινικές δοκιμές τριών φάσεων. Στην **πρώτη φάση** ελέγχεται η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα, η ανοσογονικότητα των εμβολίων και το εύρος των δόσεων, σε μικρό αριθμό υγείων εθελοντών. Στη **δεύτερη φάση**, ελέγχεται το διευρυμένο προφίλ ασφάλειας και η ανοσολογική απάντηση σε μεγάλο αριθμό συμμετεχόντων-εκατοντάδες εθελοντές. Στην **τρίτη φάση**, ελέγχεται η αποτελεσματικότητα σε χιλιάδες εθελοντές. Όσο μεγαλύτερη είναι η επίπτωση της νόσου στον πληθυσμό τόσο μεγαλύτερο είναι και το μέγεθος ελέγχου. Στο στάδιο αυτό, ελέγχεται η αποτελεσματικότητα της πρόληψης ενός συγκεκριμένου τελικού αποτελέσματος, συνήθως μίας νόσου που μπορεί να επιβεβαιωθεί και εργαστηριακά. Η αποτελεσματικότητα υπολογίζεται ως η μείωση της επίπτωσης της νόσου σε εκείνους που χορηγήθηκε το εμβόλιο σε σύγκριση με εκείνους που χορηγήθηκε το εικονικό φάρμακο. Παραδοσιακά, τα τρία βήματα γίνονται ξεχωριστά και κάθε φάση χρειάζεται χρόνια για να ολοκληρωθεί. Ωστόσο, λόγω της πανδημίας SARS-CoV-2, η διαδικασία ανάπτυξης εμβολίων

επιταχύνθηκε, οι φάσεις αλληλεπικαλύφθηκαν ή συνδυάστηκαν και έτσι έγινε εφικτή η παραγωγή εμβολίων εντός λίγων μηνών. Εντούτοις, τα δεδομένα ασφάλειας καταγράφονται αυστηρά και υπάρχουν επιτροπές παρακολούθησης που αποτελούνται από ανεξάρτητους ειδικούς επιστήμονες. Επίσης, οι εταιρείες είναι υποχρεωμένες να καταγράφουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες και να ενημερώνουν για αυτές. [30]

Η ανάπτυξη εμβολίων έναντι του SARS-CoV-1 και του MERS-CoV (κορωνοϊός αναπνευστικού συνδρόμου της Μέσης Ανατολής) άνοιξαν το δρόμο για τη γρήγορη ανάπτυξη εμβολίων για την νόσο COVID-19. Μελέτες φάσης I και II είχαν ήδη πραγματοποιηθεί για τους προαναφερθέντες ιούς. Έτσι, η ομοιότητα τους με τον SARS-CoV-2 όσον αφορά της πρωτεΐνη της ακίδας και τον όμοιο αντιγονικό στόχο- ACE-2, βοήθησε στην γρήγορη εύρεση στόχου για το νέο εμβόλιο.

Τύποι εμβολίων

Υπάρχουν διάφοροι τύποι εμβολίων που χρησιμοποιούνται ή δοκιμάζονται έναντι του SARS-CoV-2. Όλα τα εμβόλια χορηγούνται ενδομυϊκά, συνήθως σε σχήματα δύο δόσεων. [30], [38]

Εμβόλια που περιέχουν **ολόκληρο τον ιό σε αδρανοποιημένη μορφή**. Ο ιός SARS-CoV-2 επώαζεται σε κυτταροκαλλιέργειες και στη συνέχεια αδρανοποιείται χημικά. Ο αδρανοποιημένος ιός συνήθως συνδυάζεται με κάποια ανοσοενισχυτικό, όπως το άλουμ, για να διεγερθεί η ανοσιακή απάντηση. Η ανοσιακή απάντηση σε αυτά τα εμβόλια στοχεύει σε διάφορες πρωτεΐνες του SARS-CoV-2. Τα εμβόλια BBIBP-CorV (Sinopharm) και CoronaVac (Sinovac), που κυκλοφορούν ήδη στην Κίνα και το Covaxin (Bhart Biotech/Indian Council of Medical Research) στην Ινδία είναι εμβόλια πλήρους αδρανοποιημένου ιού. [41]

Εμβόλια που περιέχουν **γενετικά εξασθενημένη μορφή του ιού**. Σε αυτό το είδος εμβολίων παρασκευάζεται γενετικά πιο αδύναμη μορφή του άγριου τύπου του SARS-CoV-2. Ο εξασθενημένος ιός πολλαπλασιάζεται στον ανθρώπινο οργανισμό προκαλώντας ανοσιακή απάντηση (χυμική και κυτταρική) χωρίς ωστόσο να μπορεί να προκαλέσει νόσο. Το πλεονέκτημα αυτών των εμβολίων είναι ότι μπορούν να χορηγηθούν και ενδορινικά, οδηγώντας στην ανοσοποίηση των βλεννογόνων. Το μειονέκτημα τους είναι ότι μπορεί να υποστραφούν ή να ανασυνδυαστούν με τον άγριο τύπο του ιού. Εμβόλια αυτού του τύπου υπάρχουν μόνο σε προκλινικές μελέτες.

Τα εμβόλια **ανασυνδυασμένων ιικών πρωτεϊνών**, περιέχουν αβλαβή κομμάτια (ολόκληρες πρωτεΐνες ή υποομάδες πρωτεϊνών του κορωνοϊού, κυρίως την S πρωτεΐνη της ακίδας και την

πρωτεΐνη M της μεμβράνης), τα οποία έχουν εκφραστεί σε κύτταρα εντόμων, θηλαστικών ή φυτών. Το Novavax (NVX-CoV2373) είναι εμβόλιο ικών υποομάδων, που έχει πάρει έγκριση στην Ινδία.

Τα εμβόλια **ικών φορέων** αποτελούνται από ένα διαφορετικό είδος εξασθενημένου ζωντανού ιού, όπως ένας αδενοϊός, στο οποίο εισάγεται γενετικό υλικό του SARS-CoV-2, που εκφράζει μια πρωτεΐνη (συνήθως την πρωτεΐνη της ακίδας). Ο εξασθενημένος ιός χρησιμεύει ως σύστημα παράδοσης. Μπαίνει στα κύτταρα και παραδίδει γενετικό υλικό από τον SARS-CoV2, ώστε να γίνουν αντίγραφα της πρωτεΐνης S και να επαχθεί ανοσιακή απάντηση. Τα εμβόλια ικού φορέα δεν μπορούν να προκαλέσουν νόσο από τον ιό SARS-CoV-2, ούτε από τον ιό φορέα. Επίσης, το γενετικό υλικό που παραδίδεται, δε γίνεται μέρος του DNA του εμβολιαζόμενου. Μειονέκτημα αυτών των εμβολίων είναι η περίπτωση προηγούμενης ανοσιακής απάντησης στο φορέα, που μπορεί να επηρεάσει την ανοσογονικότητα του εμβολίου. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί χρησιμοποιώντας ασυνήθιστους για τον άνθρωπο ικούς φορείς, όπως αυτοί που προέρχονται από ζώα (π.χ. αδενοϊός χιμπατζή) ή φορείς που δεν επάγουν αυτοανοσία (π.χ. αδενοσχετιζόμενοι ιοί-AAV). Το εμβόλιο ChAdOx1 nCoV-19/AZD122 (AstraZeneca) χρησιμοποιεί ως φορέα ένα αδρανοποιημένο αδενοϊό χιμπατζή με αδυναμία αναπαραγωγής. Στην ίδια κατηγορία ικών φορέων ανήκουν και τα Gam-COVID-Vac/Sputnik V (Gamaleya Institute) που εγκρίθηκε στη Ρωσία και χρησιμοποιεί δύο ιούς φορείς στην πρώτη δόση του εμβολίου, τον αδενοϊό 26 και στη δεύτερη δόση τον αδενοϊό 5 και το Ad5based COVID-19 vaccine (CanSino Biologics) στην Κίνα, Μεξικό και Πακιστάν που χρησιμοποιεί αδενοϊό 5. Τέλος, κυκλοφορεί ήδη, το εμβόλιο Ad26.COV2.S (Janssen ή Johnson & Johnson) που χρησιμοποιεί ως φορέα ανίκανο αναπαραγωγής αδενοϊό 26 και έχει πάρει έγκριση στην Αμερική και την Ευρώπη. [54]

Τα εμβόλια **νουκλεοπρωτεϊνών DNA**, περιέχουν πλασμιδιακό DNA, που συμπεριλαμβάνει εκκινητές και το γονίδιο στόχο για μια πρωτεΐνη του ιού που προκαλεί ανοσοαπάντηση. Μεγάλες ποσότητες πλασμιδιακού DNA μπορούν να παραχθούν σε βακτήρια Escherichia Coli. Ωστόσο, τα εμβόλια DNA είναι χαμηλής ανοσογονικότητας και χρειάζονται συμμεταφορείς. Για να παράγουν πρωτεΐνες του ιού πρέπει να εισέλθουν στον πυρήνα και να μεταγραφούν σε αγγελιοφόρο RNA (mRNA). Τα εμβόλια DNA βρίσκονται μόνο σε προκλινικές μελέτες.

Τα εμβόλια **νουκλεοπρωτεϊνών mRNA**, είναι τα πρώτα εμβόλια που παρήχθησαν για τον SARS-CoV-2 και αποτελούν μια καινούργια προσέγγιση για τα εμβόλια. Αν και στο παρελθόν η τεχνολογία είχε χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αντικαρκινικών φαρμάκων, είναι η πρώτη φορά που χρησιμοποιείται για την παραγωγή εμβολίων. Το mRNA μεταφέρεται μέσα σε

νανολιποσωματίδιο, που το διευκολύνει να διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη. Αφού χορηγηθεί το εμβόλιο, το mRNA εισέρχεται μέσα στο κύτταρο και μεταφράζεται στην πρωτεΐνη στόχο, που στη συνέχεια θα διεγείρει την ανοσολογική απάντηση. Το mRNA παραμένει στο κυτταρόπλασμα και δεν εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου, έτσι δε μπορεί να αλληλεπιδράσει με το ανθρώπινο DNA. Τα εμβόλια παράγονται στο εργαστήριο *in vitro*, κάτι που διευκολύνει την παραγωγή τους. Ωστόσο, επειδή δεν έχουν δοκιμαστεί ευρέως στο παρελθόν, η παραγωγή τους δε μπορεί να γίνει γρήγορα και η αποθήκευσή τους απαιτεί πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Τα εμβόλια BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) και mRNA-1273 (Moderna) είναι εμβόλια που περιέχουν τροποποιημένο mRNA της S πρωτεΐνης της ακίδας του ιού μέσα νανολιποσωματίδια. [15], [40]

Η σύγχρονη τάση εξατομικευμένης ιατρικής κατευθύνει και προς εξατομικευμένα εμβόλια ανάλογα με το άτομο να χορηγείται το κατάλληλο εμβόλιο, στη σωστή δόση, τη σωστή ώρα. Σε στάδιο ερευνών βρίσκεται εξατομικευμένο εμβόλιο, όπου κύτταρα του ιδίου του ατόμου ενεργοποιούνται εκτός οργανισμού με μη μολυσματικά θραύσματα ιού και στη συνέχεια εμφυτεύονται στον εμβολιαζόμενο για ανάπτυξη ανοσίας.

Εμβόλια με αδειοδότηση

Στην Ευρώπη, τα εμβόλια των εταιρειών Pfizer-BioNTech, Moderna, AstraZeneca και Janssen έχουν πάρει άδεια για επείγουσα χρήση (EUA) για την πρόληψη της COVID-19, σε άτομα ηλικίας άνω των 18 ετών. Η επιλογή των εμβολίων γίνεται βάσει της διαθεσιμότητάς τους και ο πληθυσμός προτεραιοποιείται βάσει ηλικιακών κριτηρίων και συνοδών νοσημάτων. Φαίνεται πως όλα τα εμβόλια είναι αποτελεσματικά για την πρόληψη της εμφάνισης COVID-19 και ειδικότερα μέτριας/σοβαρής νόσου, καθώς και για την μείωση των εισαγωγών στο νοσοκομείο. Διαφορές στην αποτελεσματικότητα μπορεί να σχετίζονται με τον πληθυσμό μελέτης, την περιοχή, την περίοδο της πανδημίας και το σχεδιασμό της μελέτης. Όλα τα εμβόλια χορηγούνται σε δύο δόσεις, εκτός από το Janssen που είναι μονοδοσιακό. Η μόνη απόλυτη αντένδειξη χορήγησης των εμβολίων είναι αναφυλακτική αντίδραση στο εμβόλιο COVID-19 ή στα έκδοχά του. Τα εμβόλια συνιστώνται και σε ασθενείς με προηγούμενη λοίμωξη από COVID-19 και προτείνεται να έχει μεσολαβήσει τουλάχιστον ένας ως τρεις μήνες από το θετικό τεστ. Ο εμβολιασμός, φαίνεται να ενισχύει τα επίπεδα αντισωμάτων από τη λοίμωξη και πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι αρκεί μία δόση για την παραγωγή επαρκούς ανοσιακής απάντησης (εξουδετερωτικών αντισωμάτων). Πρόσφατα, τα εμβόλια m-RNA πήραν έγκριση για τη χρήση σε εγκύους και θηλάζουσες. Ενώ φαίνεται ότι τα αντισώματα μεταφέρονται μέσω του πλακούντα ή του θηλασμού και στα βρέφη. Επίσης, αν και η αποτελεσματικότητα των εμβολίων σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (ασθενείς

με καρκίνο υπό χημειοθεραπεία, αιματολογικές κακοήθειες, μεταμόσχευση μυελού ή συμπαγών οργάνων, HIV χωρίς θεραπεία και $CD4 < 200 \text{ cells/microL}$, πρωτοπαθή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια και χρήση ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων) είναι αμφίβολη, συνιστάται πλήρης εμβολιασμός. Σε ορισμένους ασθενείς προτείνεται κατάλληλη προσαρμογή του χρόνου χορήγησης της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας βάσει του εμβολιασμού. Τέλος, στις αρχές Μαΐου 2021 το εμβόλιο BNT162b2 έλαβε έγκριση στην Αμερική για χορήγηση σε παιδιά ηλικίας άνω των 12ετών. [38]

Παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσογονικότητα

Η προστασία μετά από φυσική μόλυνση από τον SARS-CoV-2 μεσολαβείται από την παραγωγή ιντερφερονών τύπου I, εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι της S πρωτεΐνης και ειδικών για τον ιό $CD4+$ και $CD8+$ T λεμφοκύτταρα. Από τις μελέτες φάσης I και II των διαφόρων εμβολίων φάνηκε ότι η προστασία περιλαμβάνει την παραγωγή anti-S IgG αντισωμάτων (χυμική ανοσία) και κυτταρική ανοσία περιλαμβανομένης της παραγωγής κυττάρων μνήμης. [51]

Όσον αφορά τα εμβόλια έναντι του SARS-CoV-2 ακόμα δεν έχει διευκρινιστεί η διάρκεια προστασίας που προσφέρουν τα αντισώματα. Δεν είναι σαφές, πόσο συμμετέχει η Th1 απάντηση και η παραγωγή κυτταροτοξικών T κυττάρων στην προστασία και κατά πόσο η ανοσολογική γήρανση και η ανοσοανεπάρκεια επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των εμβολίων. Επίσης, δεν είναι γνωστό αν ανοσολογικοί και ανοσογενετικοί φαινότυποι σχετίζονται με όσους δεν απαντούν στον εμβολιασμό. Ακόμη προς διερεύνηση την επιστημονικής κοινότητας είναι η επίδραση των αυτοαντισωμάτων έναντι ιντερφερονών τύπου I και η μειονεκτική φυσική ανοσία στην αποτελεσματικότητα των εμβολίων. Τέλος, μελλοντικές προκλήσεις αφορούν τυχόν ανοσοπαθολογικές παρενέργειες των εμβολίων, πρακτικές βελτίωσης της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας τους καθώς και παραγωγή αποτελεσματικών εμβολίων για τα μεταλλαγμένα στελέχη. [46]

Μόλις εμβολιαστεί ένα μεγάλο ποσοστό του πληθυσμού μπορεί να επικρατήσουν τα στελέχη με μεταλλάξεις που διαφεύγουν από τα εμβόλια, καθώς θα υπάρξει ανοσολογική πίεση που θα ευνοήσει την εμφάνιση παραλλαγών του ιού που είτε θα διαφεύγουν της δράσης των εμβολίων, είτε θα μειώνουν την αποτελεσματικότητά τους. Ένα ευόιωνο στοιχείο για τις μεταλλάξεις είναι ότι από τον εμβολιασμό δε δημιουργείται μόνο ένα αντίσωμα, αλλά πολλά διαφορετικά που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους των αντιγόνων του ιού, δηλαδή συμβαίνει μια πολυκλωνική απάντηση του οργανισμού που στοχεύει σε διάφορα μέρη της πρωτεΐνης της ακίδας.

Ο ιός πιθανότατα θα χρειαστεί να συσσωρεύσει πολλαπλές μεταλλάξεις στην ακίδα για να αποφύγει την ανοσία που προκαλείται από εμβόλια ή από φυσική λοίμωξη. Επίσης η εξασθένηση της ανοσολογικής κάλυψης των εμβολίων δεν αναμένεται να συμβεί σύντομα γιατί ο ιός μεταλλάσσεται με αργό ρυθμό, επειδή έχει μεγάλο γονιδίωμα μεταλλάσσεται βραδύτερα από άλλους RNA ιούς. Το γονίδιο της S πρωτεΐνης του ιού βρίσκεται υπό εξελικτικό περιορισμό, δεν είναι από τα γονίδια του ιού που αλλάζουν. Στο γονιδίωμα το ιού υπάρχουν 7 στοιχεία με έντονη μεταλλακτική δραστηριότητα, ένα από αυτά βρίσκεται στο γονιδίωμα που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη της ακίδας, ωστόσο βρίσκεται εκτός της πρωτεΐνης που συνδέονται τα εξουδετερωτικά αντισώματα. Η τεχνολογία mRNA που χρησιμοποιείται για τα εμβόλια είναι πολύ ευέλικτη και μπορεί να τροποποιηθεί ώστε να φιλοξενήσει νέες μεταλλάξεις του ιού. [32], [33]

Ένα ακόμη ερώτημα που αφορά τον εμβολιασμό είναι κατά πόσον ένας εμβολιασμένος μπορεί να νοσήσει και να μεταδώσει τον ιό. Οι εμβολιασμένοι μπορεί να μολυνθούν, αλλά μπορούν να ελέγξουν καλύτερα τον ιό αφού θα ενεργοποιήσουν τα κύτταρα μνήμης που έχουν παραχθεί μετά τον εμβολιασμό και θα αναπτύξουν δευτεροπαθή ανοτική απάντηση και μπορεί να μην εμφανίσουν συμπτώματα ή να έχουν ήπια νόσο. Επίσης, έχουν σημαντικά μειωμένη πιθανότητα μετάδοσης γιατί ελέγχουν τον ιό, φιλοξενώντας μικρότερο φορτίο στο ρινικό βλεννογόνο από τους μη εμβολιασμένους. Παρόλ' αυτά, σε ένα διάστημα από την είσοδο του ιού μέχρι την ανάπτυξη δευτερογενούς ανοτικής απάντησης, μπορεί να μεταδώσουν τον ιό. Δεδομένης της έστω μικρής πιθανότητα μετάδοσης αλλά και της εμφάνισης πιο μεταδοτικών μεταλλάξεων οι εμβολιασμένοι θα πρέπει να συνεχίζουν να φορούν μάσκες και να διατηρούν κοινωνική απόσταση όταν βρίσκονται με μη εμβολιασμένα άτομα που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο σοβαρής ασθένειας αν μολυνθούν. [44]

Ρυθμός μετάδοσης

Με τα εμβόλια μπορεί να επιβραδυνθεί ο ρυθμός μετάδοσης και η εξάπλωση του ιού. Όταν ο μισός πληθυσμός είναι άνοσος, η επιδημία σταματά να εξαπλώνεται ($R_0 \leq 1$) και έτσι χτίζεται η ανοσία της κοινότητας ή αλλιώς ανοσία της αγέλης με ελεγχόμενο τρόπο. Όταν το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού έχει νοσήσει από ένα συγκεκριμένο μικροοργανισμό, είτε μέσω εμβολιασμού, είτε μέσω προηγούμενης λοίμωξης, τότε συμβαίνει ανοσία της αγέλης, δηλαδή άτομα που δεν είναι άνοσα, προστατεύονται εμμέσως από το εν λόγω παθογόνο. Έτσι, όταν μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού έχει ανοσία, οι αλυσίδες μόλυνσης διαταράσσονται ευκολότερα και επιβραδύνεται ή ακόμα σταματά η μετάδοση της νόσου. Όσο περισσότερα άτομα έχουν ανοσία στην κοινότητα, τόσο χαμηλότερη είναι η πιθανότητα άτομα που δεν έχουν νοσήσει να

έρθουν σε επαφή με μολυσματικό άτομο και με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται προστασία των μη ανοσοποιημένων από τη μόλυνση. [57]

Τα εμβόλια είναι από τις πιο αποτελεσματικές παρεμβάσεις, προστασίας της δημόσιας υγείας στην ανθρώπινη ιστορία. Έχουν καταστήσει ικανή την εξαφάνιση ασθενειών, όπως ο δαμαλισμός και η πολιομυελίτιδα, έχουν βοηθήσει στη μείωση της νοσηρότητας και θνητότητα από πολλούς ιούς και βακτήρια που ταλαιπωρούν την ανθρωπότητα και αποτελούν τα κύρια όπλα προαγωγής της δημόσιας υγείας.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ανοσία

Οι μηχανισμοί άμυνας του ξενιστή, μετά την εισβολή ενός μικροοργανισμού, περιλαμβάνουν την **φυσική ή έμφυτη ή εγγενή ανοσία**, την πρώτη γραμμής άμυνας του οργανισμού, στην οποία διάφοροι φυσικοί κυτταρικοί φραγμοί παρεμποδίζουν την είσοδο του παθογόνου και άλλοι εξουδετερώνουν τους μικροοργανισμούς πριν εισέλθουν στον οργανισμό (π.χ. φαγοκύτταρα, φυσικά κυτταροκτόνα και λεμφοειδή κύτταρα και σύστημα του συμπληρώματος). Επίσης, περιλαμβάνουν την **επίκτητη ή ειδική ή προσαρμοσμένη ανοσία**, που μεσολαβείται από το ανοσοκύτταρο T και B και από τα προϊόντα τους. Οι δύο τύποι της επίκτητης ανοσίας είναι η **χυμική**, στην οποία τα B λεμφοκύτταρα παράγουν αντισώματα και εξουδετερώνουν τους εξωκυττάριους μικροοργανισμούς και η **κυτταρική ανοσία**, στην οποία διαφορετικοί τύποι T λεμφοκυττάρων εξαλείφουν τους ενδοκυττάριους μικροοργανισμούς. Σε ένα άτομο, η ανοσία μπορεί να επιτευχθεί μετά από εμβολιασμό ή λοίμωξη και καλείται **ενεργητική ανοσοποίηση**, είτε μπορεί να μεταδοθεί στο άτομο με μεταφορά αντισωμάτων ή λεμφοκυττάρων από άλλο ενεργά ανοσοποιημένο άτομο και τότε καλείται **παθητική ανοσοποίηση**. [59]

Ενεργητική ανοσοποίηση μετά από μόλυνση από τον ιό SARS-CoV-2

Το ανοσιακό σύστημα διαθέτει μια σειρά μηχανισμών με τους οποίους θα εντοπίσει, θα αναγνωρίσει και θα εξουδετερώσει παθογόνα, οδηγώντας σε ανοσία. Τις πρώτες ώρες από την είσοδο ενός μικροοργανισμού στον ανθρώπινο οργανισμό ξεκινά η ανοσιακή απάντηση. Τα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν το παθογόνο και με τη μεσολάβηση κυτταροκινών ενεργοποιείται το συμπλήρωμα, τα φαγοκύτταρα και τα NK κύτταρα ώστε να ενεργοποιηθεί μια τοπική και συστηματική αντίδραση για την εξουδετέρωση των παθογόνων (μη ειδική ή φυσική ανοσία). Αν αποτύχουν οι ανωτέρω μηχανισμοί ξεκινά μια πιο ισχυρή και γενικευμένη απάντηση. Μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα προσλαμβάνουν αντιγόνα του παθογόνου, ωριμάζουν και πολλαπλασιάζονται στους λεμφαδένες, τα επεξεργάζονται και τα παρουσιάζουν σε ειδικά για το αντιγόνο T – βοηθητικά κύτταρα (MHC I και MHC II) τα οποία ενεργοποιούνται και στη συνέχεια επάγουν τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων, είτε ενεργοποιούνται T- κυτταροτοξικά κύτταρα (CD8/MHC I) που θα μπορέσουν να θανατώσουν το παθογόνο, είτε T λεμφοκύτταρα (CD4/MHC II) που θα επάγουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων (TH1 απάντηση) ή B- λεμφοκυττάρων (TH2 απάντηση) ώστε να διαφοροποιηθούν σε πλασματοκύτταρα και να παράγουν αντισώματα για την εξουδετέρωση του παθογόνου (ειδική ανοσία). Οι κυτταροκίνες (TNFα, IL1, IL6, IL8, IFNγ) αποτελούν τους αγγελιοφόρους μηνυμάτων μεταξύ των ανοσοκυττάρων και τους ρυθμιστές τόσο της μη- ειδικής όσο και της ειδικής ανοσίας. Οι

χημειοκίνες (π.χ. συμπλήρωμα) έχουν χημειοτακτική και κυτταροκινητική δράση, καθορίζουν ποια ανοσοκύτταρα θα εξαγγειωθούν για να συμμετάσχουν στην ανοσιακή απάντηση και προς ποιο ιστό θα μετακινηθούν. Η φυσική και η ειδική ανοσία αποτελούν δεύτερης και τρίτης γραμμής μηχανισμούς άμυνας. Πρώτης γραμμής άμυνας αποτελούν φυσικοί και μικροβιολογικοί φραγμοί (δέρμα, παρμός, βήχας, δάκρυα, μικροβιακή χλωρίδα), οι οποίοι παρεμποδίζουν την είσοδο ή ανταγωνίζονται τα παθογόνα προκειμένου να μην εισέλθουν στον οργανισμό και εξαπλωθούν. [2], [60]

Η άμυνα κατά του SARS-CoV-2 αποτελεί μια σειρά αλληλεπιδράσεων του ιού με τον ανοσιακό σύστημα που περιλαμβάνει την είσοδο, τον πολλαπλασιασμό, την εξάπλωση και τις άμεσες βλάβες που προκαλεί ο ιός στα κύτταρα. Ακολουθούν οι αμυντικοί μηχανισμοί του ξενιστή, οι παρεμβάσεις του ιού στην άμυνα του ξενιστή και η ανοσοπαθολογία που είναι επακόλουθο της αλληλεπίδρασης του ιού με το ανοσιακό σύστημα. Ο ιός σε όλη τη διαδικασία παρεμβαίνει με προσαρμοστικούς μηχανισμούς για να εξασφαλίζει την επιβίωση του, ενώ το ανοσιακό σύστημα δίνει τη δυνατότητα ανάπτυξης τεχνικών άμυνας.

Η είσοδος του ιού στα κύτταρα γίνεται μέσω των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II (ACE2). Ο ιός SARS-CoV-2 συνδέεται με υψηλότερη συγγένεια (20 φορές) σε σχέση με τον SARS-CoV-1, γεγονός που εξηγεί τη μεγαλύτερη μολυσματικότητα και εξάπλωση του πρώτου. Μετά την είσοδο του στο κύτταρο, ο ιός απελευθερώνει το RNA του και χρησιμοποιεί στοιχεία του ανθρώπινου κυττάρου για να φτιάξει τις πρωτεΐνες του και τελικά νέα ιικά σωματίδια τα οποία βγαίνουν από το μολυσμένο κύτταρο και μολύνουν γειτονικά κύτταρα. Οι υποδοχείς ACE2 εκφράζονται σε πολλά κύτταρα ωστόσο σημαντικό ρόλο για την είσοδο του ιού στο κύτταρο παίζει η πρωτεΐνη TMPRSS2 που δρα σαν ένζυμο και ενεργοποιεί τις πρωτεΐνες ακίδας, ώστε να μπορέσει ο ιός να προσδεθεί στα κύτταρα που φέρουν της ACE2. Τα κύτταρα που εκφράζουν και τις δύο πρωτεΐνες είναι τα πιο ευαίσθητα για την είσοδο του ιού, έτσι τα πιο επιδεκτικά όργανα για την είσοδο του ιού είναι οι πνεύμονες, η καρδιά και οι νεφροί. Αρχικά, η βλάβη του ιού στα κύτταρα που μολύνει είναι άμεσα κυτταροπαθητική με καταστροφή των κυττάρων και δυσλειτουργία οργάνων. Η δράση των κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων, των NK κυττάρων και το αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος οδηγεί σε καταστροφή των κυττάρων και κατ' επέκταση βλάβη των ιστών. Ακόμη η έκκριση κυτταροκινών από τα μακροφάγα οδηγεί σε έντονη φλεγμονώδη αντίδραση, απόπτωση και θάνατο των κυττάρων. [30], [ΕΙΚΟΝΑ 3]

Ο ιός μπορεί να επωφελείται από κάποιες εκτροπές στις ανοσολογικές αντιδράσεις, όπως στην περίπτωση που δεν παράγονται εξουδετερωτικά αντισώματα για τον ιό, αλλά αντισώματα που

ενισχύουν την εξάπλωσή του και την είσοδο του σε κύτταρα που παράγουν Fc υποδοχείς για τις ανοσοσφαιρίνες. Επίσης, η αυξημένη παραγωγή ιντερφερόνης οδηγεί σε μεγάλη έκφραση του υποδοχέα ACE II στην επιφάνεια των κυττάρων (πνεύμονα, μύτη, έντερο) με αποτέλεσμα την αύξηση των θέσεων πρόσδεσης του SARS-CoV-2 και βελτίωση της ικανότητας του να προσκολλάται και να εισδύει στα κύτταρα. [43]

Η βασικότερη παρέμβαση του SARS-CoV-2, για να εκτρέψει τις αμυντικές λειτουργίες του ξενιστή, είναι η αποδυνάμωση των αισθητήρων των κυττάρων για τον ιό, ώστε να μην αναγνωρίζεται το RNA του ιού και συνεπώς να παράγεται μειωμένη ποσότητα ιντερφερόνης IFN-I. Ελαττωματικές αντιδράσεις του ξενιστή έχει βρεθεί ότι επάγονται στο 20% των βαρέως πασχόντων ασθενών, αντί της παραγωγής IFN-1, παράγονται ιντερλευκίνες (IL-1β, IL-6, IL-10). Ενεργοποιείται μια καταιγίδα φλεγμονωδών κυτταροκινών που επηρεάζει τόσο το τοπικό περιβάλλον της αντίδρασης όσο και την επαγωγή μιας μειονεκτικής ειδικής ανοσιακής απάντησης που επηρεάζει την ενεργοποίηση ειδικών για τον ιό, κυτταροτοξικών T- λεμφοκυττάρων και B- λεμφοκυττάρων. Επικρατεί Th2 μη κυτταροτοξική αντίδραση και μειωμένη παραγωγή αντισωμάτων, με αποτέλεσμα τη μη θανάτωση των μολυσμένων κυττάρων και την αποτυχία εξουδετέρωσης του ιού. [43], [44]

Οι ασθενείς με σοβαρή COVID-19 νόσηση παρουσιάζουν ένα ειδικό ανοσολογικό προφίλ που υποδηλώνει δυσλειτουργία του ανοσιακού συστήματος (λεμφοπενία, ενεργοποίηση και δυσλειτουργία των λεμφοκυττάρων, ανωμαλίες κοκκιοκυττάρων και μονοκυττάρων, υψηλά επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-6, TNF), αύξηση της ανοσοσφαιρίνης G (κυρίως IgG1) και των ολικών αντισωμάτων. Οι ανοσολογικές ανωμαλίες μπορεί να οδηγήσουν σε λοιμώξεις από μικροοργανισμούς, σηπτικό σοκ και σοβαρή δυσλειτουργία πολλαπλών οργάνων. Η καταιγίδα των κυτταροκινών οδηγεί σε υπέρμετρη ανοσοπαθολογική αντίδραση που προκαλεί βλάβη των κυττάρων και ως αποτέλεσμα και των οργάνων. Ειδικότερα προκαλεί βλάβες στα όργανα: μυοκάρδιο, νεφρούς, πνεύμονες, νευρικό σύστημα, ήπαρ και μηχανισμό πήξης με αποτέλεσμα πολυοργανικές βλάβες, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο.

Η έκβαση της νόσου είναι καλή στο 80% των περιπτώσεων, το ανοσιακό σύστημα καταφέρνει να αντιμετωπίσει τον ιό, παράγει φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που πυροδοτούν μια φυσιολογική, ελεγχόμενη και αποτελεσματική ανοσιακή απάντηση, δημιουργεί αντισώματα που των εξουδετερώνει περιορίζοντας τη φλεγμονή και αποτρέποντας βλάβες κυττάρων ιστών και οργάνων. Αντίθετα, σε περίπτωση δυσλειτουργίας της ανοσιακής απάντησης θα έχουμε

υπερβολική διήθηση από μονοκύτταρα, μακροφάγα και T- λεμφοκύτταρα, συστηματική καταιγίδα φλεγμονωδών κυτταροκινών, ευρεία διασπορά της φλεγμονής και πολυοργανική ανεπάρκεια.

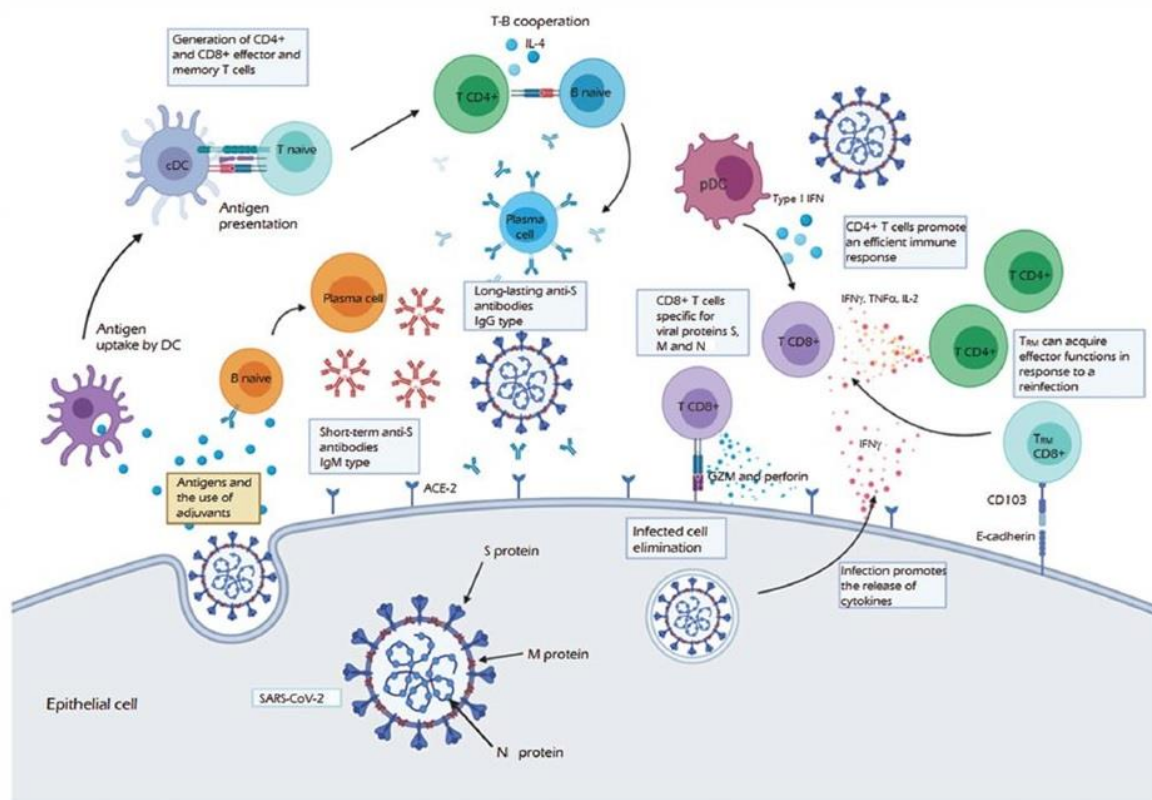
Όσον αφορά την κλινική έκφραση της ανοσιακής αντίδρασης, η έκθεση στον ιό μπορεί να μην οδηγήσει σε λοίμωξη. Αν οδηγήσει σε λοίμωξη αυτή μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή συμπτωματική, ήπια, μέτρια ή σοβαρή. Οι ασθενείς με ήπια και μέτρια λοίμωξη αναρρώνουν, σε αντίθεση με εκείνους με σοβαρή νόσηση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο. Οι περιπτώσεις με σοβαρή νόσηση σχετίζονται με περιορισμένη προστατευτική ανοσία και ανοσιακή απορρύθμιση. Στην προστατευτική κυτταρική ανοσία, παράγονται κυτταροτοξικά T, εξουδετερωτικά anti-S αντισώματα και Th1 απαντήσεις. Η αποκατάσταση συνεχίζεται με την παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών και απόπτωση ανοσοκυττάρων που έχουν διεισδύσει στις αντιδράσεις. [42]

Μεταλλάξεις

Μια σημαντική στρατηγική που χρησιμοποιεί ο ιός SARS-CoV-2 για να ξεφύγει από τις επιθέσεις του ανοσιακού συστήματος είναι η αλλαγή της αντιγονικής του ταυτότητας, δηλαδή οι μεταλλάξεις, οι οποίες μπορεί να προκύψουν με αντικατάσταση ενός γονιδίου με ένα άλλο ή ακόμη με προσθήκη ή διαγραφή γενετικής πληροφορίας. Οι μεταλλάξεις συμβαίνουν κατά την αντιγραφή του γονιδιώματος του ιού και μπορεί να είναι τυχαία λάθη ή ανταλλαγή γονιδιακών τμημάτων μεταξύ στελεχών που επηρεάζουν τον άνθρωπο και τα ζώα. Οι τυχαίες μεταλλάξεις ή παραλλαγές μπορεί να είναι ουδέτερες, επιβλαβείς ή ευεργετικές για τον ιό, οπότε στην τελευταία περίπτωση μπορεί να οδηγήσουν σε επιδημία. Τα νέα στελέχη οδηγούν σε σημαντική και απότομη αλλαγή των επιφανειακών αντιγόνων του ιού και μπορεί να έχουμε την έξαρση πανδημίας.

Φαίνεται να υπάρχουν τουλάχιστον 12 μεταλλάξεις. Οι πιο γνωστές μεταλλάξεις είναι της Μεγάλης Βρετανίας (B.1.1.7), της Νοτίου Αφρικής (B.1.351), της Αμερικής (B.1.429) και της Βραζιλίας (P.1). Τα τέσσερα αυτά στελέχη προκαλούν ανησυχία γιατί φαίνεται να έχουν αυξημένη μεταδοτικότητα και μειώνουν την αποτελεσματικότητα των εμβολίων. Η εμφάνιση των μεταλλάξεων συνδέεται με αυξημένα κρούσματα, καθώς οι λοιμώξεις δίνουν στους ιούς την ευκαιρία να μεταλλαχθούν και να εξαπλωθούν. Αυτός είναι ο λόγος που οι ειδικοί συνιστούν τη χρήση των μέτρων ατομικής προστασίας και την κοινωνική αποστασιοποίηση, διότι όσο λιγότεροι ξενιστές μεταφέρουν τον ιό τόσο λιγότερες είναι οι πιθανότητες να μεταλλαχθεί. Φαίνεται ότι πιθανώς οι μεταλλάξεις επηρεάζουν την εξουδετερωτική ικανότητα των αντισωμάτων που έχουν αναπτυχθεί σε όσους έχουν ανοσοποιηθεί είτε με τη νόσο είτε με το εμβόλιο. Τέλος, αντικείμενο

μελέτης αποτελούν οι μεταλλάξεις όσον αφορά τόσο τη διάγνωση τους, την αποτελεσματικότητα των υπαρχουσών θεραπειών για τη νόσο και των εμβολίων. Ωστόσο, φαίνεται ότι ο ρυθμός των μεταλλάξεων γίνεται με αργό ρυθμό, γιατί σε αντίθεση με άλλους ιούς το γονιδίωμα του SARS-CoV-2 είναι μεγάλο, και αν επιτευχθεί ανοσία μεγάλου μέρους του πληθυσμού πιθανώς να μειωθεί ο κίνδυνος σοβαρών συνεπειών από την επίδραση των μεταλλαγμένων στελεχών. [38]



ΕΙΚΟΝΑ 3 Η προστατευτική ανοσιακή απάντηση έναντι του SARS-CoV-2. Ο ιός SARS-CoV-2 συνδέεται στον υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης 2 (ACE-2) μέσω της πρωτεΐνης της ακίδας (S), αυτή είναι πρόιμη επαγωγή της ανοσιακής απάντησης. Η είσοδος του ιού στο κύτταρο, οδηγεί στην αναγνώριση από τα δενδριτικά κύτταρα (DC), της πρωτεΐνης της ακίδας και των αντιγόνων των πρωτεϊνών της μεμβράνης (M) και του νουκλεοκαπιδίου (N). Η παρουσία ανοσοεπιτακτικών και η δράση των DC οδηγεί στην αντιγονοπαρουσίαση, ενεργοποιώντας (CD4+ και CD8+) δραστικά και μνήμης T κύτταρα (**κυτταρική ανοσία**). Στη συνέχεια, η φλεγμονή ενεργοποιεί την απελευθέρωση κυτταροκινών όπως η ιντερφερόνη (INF-γ), προωθώντας την ενεργοποίηση των διεισδυτικών T-κυττάρων. Τα CD4+ T-κύτταρα, που παράγουν INF-γ, TNF-α και IL-2 οδηγούν σε μια επαρκή απάντηση έναντι του ιού, που ενισχύεται με τις ιντερφερόνες INF-1 που παράγονται από τα πλασμακτοειδή δενδριτικά κύτταρα (pDC). Επίσης, τα CD8+ κυτταροτοξικά T-κύτταρα παράγουν μόρια όπως οι περφορίνες και κοκκιζύμες (GZM), που επάγουν τον κυτταρικό θάνατο των μολυσμένων κυττάρων. Τέλος, CD8+ T_{RM} κύτταρα μνήμης μπορεί να παρέχουν αποτελεσματικές λειτουργίες για τον περιορισμό της λοίμωξης. Όσον αφορά στη **χυμική ανοσία**, υπάρχει μια αρχική παραγωγή IgM αντισωμάτων, τα οποία είναι αντισώματα μικρής διάρκειας και τα οποία γεννώνται από την ενεργοποίηση των πλασματοκυττάρων, συνήθως μέσω ενός εξαρτημένου από T- κύτταρα μηχανισμού. Επιπροσθέτως, η ενεργοποίηση των B-κυττάρων από εξαρτώμενο από T-κύτταρα μηχανισμό είναι απαραίτητος για την παραγωγή αντισωμάτων μακράς διάρκειας. Με το μηχανισμό αυτό, η αλληλεπίδραση των T-κυττάρων με το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας II (TCR-MCH-II) οδηγεί στην απελευθέρωση κυτταροκινών (όπως IL-4) προωθώντας την διαφοροποίηση των πλασματοκυττάρων και την αλλαγή την πενταμερών ισωτύπων IgM αντισωμάτων σε IgG. Η παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων ειδικά για την πρωτεΐνη S αναστέλλει την είσοδο του ιού, μέσω της παρεμπόδισης της αλληλεπίδρασης του ιού με τον υποδοχέα, που εν δυνάμει παρέχει ανοσία. Αυτοί οι μηχανισμοί από την ενεργοποίηση της κυτταρικής και της χυμικής ανοσίας, οδηγούν στην εξάλειψη και στην προστασία έναντι της λοίμωξης από τον ιό SARS-CoV-2.

Πηγή: SARS-CoV-2: previous coronaviruses, immune response, and development of vaccines.2020 doi.org/10.24875/bmhim.200001911

Ενεργητική ανοσοποίηση μέσω εμβολιασμού για τον ιό SARS-CoV-2

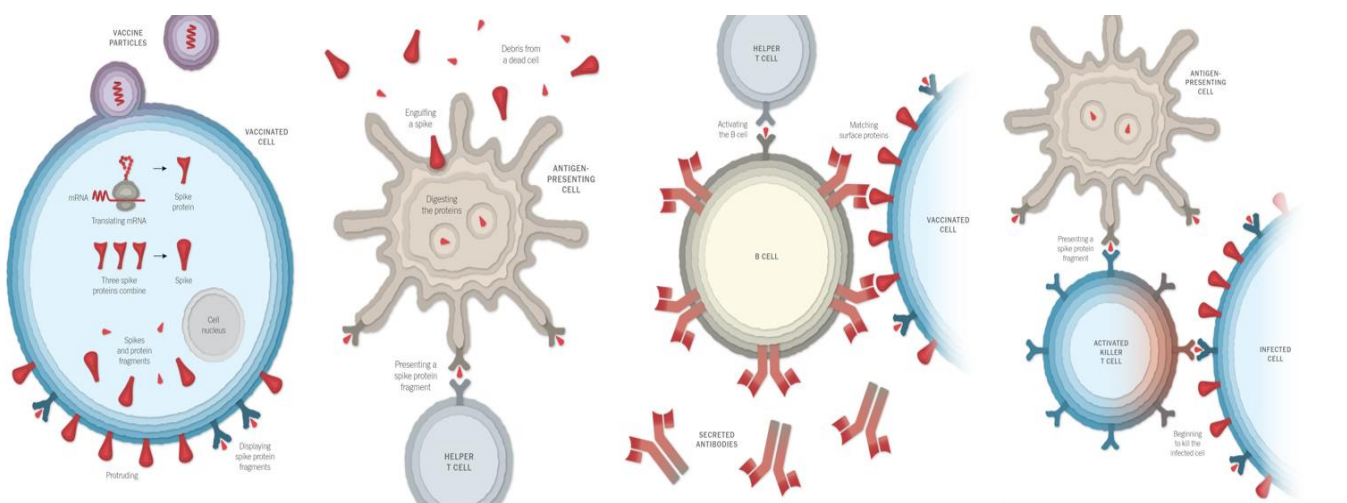
Όταν ένα άτομο μολυνθεί από τον SARS-CoV2, θα υπάρξει η αντίδραση της φυσικής άμυνας στα πλαίσια της οποίας θα ενεργοποιηθούν δενδριτικά κύτταρα, τα οποία θα προσλάβουν τα αντιγόνα του ιού θα τα επεξεργαστούν και θα τα παρουσιάσουν στα Τ λεμφοκύτταρα για επαγωγή της ειδικής άμυνας, στα πλαίσια της οποίας θα παραχθούν κυτταροκίνες από τα Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα, θα γίνει ρύθμιση της φλεγμονής από τα Τ ρυθμιστικά, θανάτωση των μολυσμένων κυττάρων από τα Τ κυτταροτοξικά, ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων και διαφοροποίηση τους σε πλασματοκύτταρα που παράγουν αντισώματα ειδικά για τα αντισώματα που προκάλεσαν την ανοσιακή απάντηση. Συγχρόνως, όμως ο οργανισμός θα αποκτήσει και ανοσολογική μνήμη. Μια από τις κύριες ιδιότητες του ανοσιακού συστήματος είναι η διατήρηση της ανάμνησης μίας πρώτης επαφής με συγκεκριμένο αντιγόνο ώστε σε επόμενη έκθεση στο ίδιο αντιγόνο να επαχθεί μια δευτερογενής ανοσιακή απάντηση ταχύτερη και ισχυρότερη από την πρωτογενή. Οι γνώσεις αυτές οδήγησαν στη δημιουργία εμβολίων για την προστασία από τη νόσο COVID-19.

Εμβόλιο BNT162b2

Το εμβόλιο BNT162b2 της Pfizer-BioNTech COVID-19 βασίζεται στην τεχνολογία του mRNA (αγγελιοφόρο ριβονουκλεϊκό οξύ). Το εμβόλιο περιέχει τη γενετική αλληλουχία για την πρωτεΐνη S (Spike protein) του ιού, μέσα σε ένα περίβλημα νανολιπιδίων που βοηθά στη μεταφορά του μέσα στο κύτταρο. Η πρωτεΐνη S βρίσκεται στην επιφάνεια του SARS-CoV-2 και κωδικοποιεί την ακίδα γλυκοπρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για την προσκόλληση του ιού στους υποδοχείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης τύπου 2 (ACE-2), οι οποίοι βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων της αναπνευστικής οδού. Μετά την έγχυση του εμβολίου, το mRNA εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα μεταφέροντας την γενετική πληροφορία, που στη συνέχεια μεταφράζεται από τα ριβοσώματα σε παραγωγή της πρωτεΐνης S. Στη συνέχεια, το mRNA καταστρέφεται από το κύτταρο, χωρίς να αφήνει μόνιμα ίχνη. Μετά τον κυτταρικό θάνατο των προσβεβλημένων κυττάρων, οι σχηματισμένες ακίδες ή θραύσματα, προσλαμβάνονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και εκφράζονται στην επιφάνειά τους. Εν συνεχεία, τα Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα θα ενεργοποιήσουν τα Β κύτταρα και θα αρχίσει η παραγωγή, ωρίμανση και διαφοροποίηση των αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S, τα οποία στόχο έχουν να εντοπίζουν και να καταστρέφουν τον ιό πριν προλάβει να εισέλθει στα κύτταρα (χυμική ανοσία). Ταυτόχρονα, τα αντιγονοπαρουσιαστικά λεμφοκύτταρα αναμένεται να ενεργοποιήσουν τα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα τα οποία μπορούν να ανιχνεύσουν και να καταστρέψουν μολυσμένα από τον SARS-CoV-2 κύτταρα του οργανισμού που εκφράζουν στη επιφάνειά τους θραύσματα της

πρωτεϊνικής ακίδας. Τέλος, κάποια Τ λεμφοκύτταρα (Τ-μνήμης) δε θα διαφοροποιηθούν περαιτέρω αλλά θα ωριμάσουν ώστε να παρέχουν χρόνια ανοσία σε περίπτωση επαναλοίμωξης (κυτταρική ανοσία) [58]. [ΕΙΚΟΝΑ 4]

Το εμβόλιο BNT162b2 χορηγείται ενδομυϊκά σε 2 δόσεις με μεσοδιάστημα 21 ημέρων (όχι λιγότερο 19 ημέρες και όχι περισσότερο από 42 ημέρες) και διατίθεται σε φιαλίδιο πολλαπλών δόσεων.



ΕΙΚΟΝΑ 4 Σχηματική απεικόνιση της εισόδου του mRNA BNT162b2 εντός των ανθρώπινων κυττάρων και της επαγωγή της χυμικής (Β-κύτταρα και παραγωγή αντισωμάτων) και της κυτταρικής (Τ-κύτταρα φονείς και μνήμης) απάντησης.

Πηγή: How the Pfizer-BioNTech Vaccine Works. The New York Times (ιστοσελίδα)

Κλινικές Μελέτες

Ανοσογονικότητα

Σε μελέτες φάσης Ι/ΙΙ τυχαιοποιημένες, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, παρατήρησης σε υγιείς ενήλικες ηλικίας από 18 έως 85 ετών, η παραγωγή δεσμευτικών και εξουδετερωτικών αντισωμάτων στο πλάσμα μετά τον εμβολιασμό, φαίνεται συγκρίσιμη με αυτή ασθενών που ανάρρωσαν, από ασυμπτωματική ως βαριά νόσο COVID-19. Οι ανοσιακές απαντήσεις σε συμμετέχοντες >65ετών φαίνονται γενικά χαμηλότερες σε σχέση με νεότερα άτομα, αλλά και πάλι συγκρίσιμες με άτομα ίδιας ηλικιακής ομάδας που ανάρρωσαν από COVID-19. Επίσης, φαίνεται ότι όσο μικρότερη η ηλικιακή ομάδα τόσο μεγαλύτερη η παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων. [23]

Όσον αφορά τις μεταλλάξεις, φαίνεται ότι οι συμμετέχοντες που εμβολιάστηκαν με BNT162b2, διατηρούν ικανή εξουδετερωτική αντισωματική απάντηση έναντι της B.1.1.7 μετάλλαξης του Ηνωμένου Βασιλείου. Επιπροσθέτως, οι τίτλοι των εξουδετερωτικών αντισωμάτων σε εμβολιασμένους φαίνεται να είναι χαμηλότεροι, σε σύγκριση με τον άγριο στέλεχος, για την Αφρικανική μετάλλαξη B.1.351.

Αποτελεσματικότητα

Σε μία μεγάλη μελέτη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο φάσης III, που δημοσιεύτηκε πριν την έγκριση του εμβολίου, το BNT162b2 φαίνεται να έχει 95% αποτελεσματικότητα (95% διάστημα εμπιστοσύνης-ΔΕ 90,3-97,6) στην πρόληψη συμπτωματικής COVID-19 νόσου σε τουλάχιστον 7 ημέρες μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου. Το αποτέλεσμα αυτό μελετήθηκε μεταξύ 170 επιβεβαιωμένων κρουσμάτων COVID-19 (8 στην ομάδα των εμβολιασμένων και 162 στην ομάδα με το εικονικό εμβόλιο) μεταξύ 36.000 συμμετεχόντων ηλικίας 16ετών και άνω με μέσο χρόνο παρακολούθησης δύο μήνες μετά τον εμβολιασμό. Εννέα στα 10 σοβαρά κρούσματα COVID-19 ανήκαν στην ομάδα του εικονικού εμβολίου. Η αποτελεσματικότητα του εμβολίου μεταξύ ενηλίκων ≥ 65 ετών με συννοσηρότητες ή παχυσαρκία, ήταν 91,7% (95% ΔΕ 44,2-99,8). Στην ομάδα των εμβολιασμένων με BNT162b2 το ποσοστό COVID-19 νόσου, άρχισε να μειώνεται μετά τις δύο εβδομάδες από την πρώτη δόση. [31], [39]

Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνονται από πολλές μελέτες παρατήρησης που ακολούθησαν. Στο Ισραήλ σε μία μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν τα εθνικά δεδομένα παρατήρησης σε περισσότερα από 6,5 εκατομμύρια άτομα, εκ των οποίων το 72% εμβολιάστηκε με BNT162b2, υπολογίζεται αποτελεσματικότητα, τουλάχιστον 7 ημέρες μετά το δεύτερο εμβόλιο, 92% για επιβεβαιωμένη SARS-CoV-2 λοίμωξη και 97% για συμπτωματική COVID-19 νόσο ή εισαγωγή στο νοσοκομείο και θάνατο σχετιζόμενο με την COVID-19. Φαίνεται ότι η αποτελεσματικότητα του εμβολίου παρέμεινε αντίστοιχα υψηλή για όλες τις ηλικιακές ομάδες, ενώ στην ίδια μελέτη φάνηκε ότι η αποτελεσματικότητα του εμβολίου για ασυμπτωματική μόλυνση είναι 90%. [21]

Μία ακόμη μελέτη αναδεικνύει ότι ακόμη και αν προκύψει ασυμπτωματική μόλυνση μετά τον εμβολιασμό με εμβόλιο BNT162b2, αυτή σχετίζεται με χαμηλότερο ιικό φορτίο RNA, σε σχέση με αυτό που φέρουν τα ανεμβολίαστα άτομα. Χαμηλότερο ιικό φορτίο στο αναπνευστικό επιθήλιο συνεπάγεται και χαμηλότερη μεταδοτικότητα του ιού. [26]

Σε μία μελέτη στο Ηνωμένο Βασίλειο, σε 23.000 επαγγελματίες υγείας, σε μία περίοδο όπου το στέλεχος B.1.1.7 ήταν το επικρατές, η αποτελεσματικότητα του εμβολίου για συμπτωματική ή

ασυμπτωματική SARS-CoV-2 μόλυνση, υπολογίστηκε στο 70%, 21 ημέρες μετά την πρώτη δόση του εμβολίου και 85% τουλάχιστον 7 ημέρες μετά τη δεύτερη δόση. Αντίστοιχη μελέτη σε 265.000 συμμετέχοντες στο Κατάρ που εμβολιάστηκαν με BNT162b2, όταν επικρατούσαν τα στελέχη B.1.1.7 και B.1.351, ανέδειξε 90% αποτελεσματικότητα έναντι συμπτωματικής ή ασυμπτωματικής μόλυνση με B.1.1.7, 75% για το B.1.135 και 100% για σοβαρή ή θανατηφόρα νόσο COVID-19 και για τα δύο στελέχη. Τέλος, μονή δόση του εμβολίου φάνηκε να συσχετίστηκε με χαμηλότερη αποτελεσματικότητα έναντι και των δύο στελεχών. [17]

Η μία δόση του εμβολίου BNT162b2 φαίνεται να επάγει ικανοποιητική ανοσολογική απάντηση σε ασθενείς που προσβλήθηκαν από SARS-CoV-2 σε σχέση με ασθενής χωρίς προηγούμενη έκθεση που έλαβαν δύο δόσεις εμβολίου. [13]

Ασφάλεια και ανεπιθύμητες ενέργειες

Πριν την αδειοδότηση του εμβολίου, η ασφάλεια του BNT162b2 αξιολογήθηκε σε περίπου 20.000 συμμετέχοντες, ηλικίας άνω των 16ετών, σε 2 κλινικές μελέτες ελεγχόμενου εικονικού φαρμάκου, οι οποίοι ήταν υπό παρακολούθηση για τουλάχιστον δύο μήνες μετά τη δεύτερη δόση. Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που αναφέρθηκαν ήταν πόνος στο σημείο της ένεσης (80%), κόπωση (60%), κεφαλαλγία (50%), ρίγος (30%), μυαλγίες-αρθραλγίες (25%) και πυρετός (10%), εμφανίστηκαν συνήθως την επόμενη ημέρα μετά τον εμβολιασμό, ήταν ήπιας έως μέτρια έντασης (δεν παρεμποδίζουν τις καθημερινές δραστηριότητες) και διήρκησαν λίγες ημέρες (συνήθως 2 ημέρες). Για την ανακούφιση των συμπτωμάτων συνιστάται η χρήση αντιπυρετικών-αναλγητικών. [53], [55]

Επίσης, σε μία ακόμα μελέτη, στις Η.Π.Α. με 1.6 εκατομμύρια εμβολιασμένους, 16ετών και άνω, οι οποίοι ρωτήθηκαν για τις ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τον εμβολιασμό, ανέφεραν αντίδραση στο σημείο της ένεσης (πόνος, ερυθρότητα, οίδημα, κνησμό) 65%, κόπωση (40%), κεφαλαλγία (33%), μυαλγίες (25%) και ρίγος ή πόνος στις αρθρώσεις (20%). Οι περισσότερες από αυτές τις αντιδράσεις αναφέρθηκαν ένα 24ωρο μετά τον εμβολιασμό. [27]

Αναφυλαξία μετά τον εμβολιασμό αναφέρεται σε ποσοστό 5 ανά 1 εκατομμύριο δόσεις. Μετά τις 10 εκατομμύρια πρώτες δόσεις BNT162b2 που χορηγήθηκαν στις Η.Π.Α., αναφέρθηκαν 50 περιστατικά αναφυλαξίας στο Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC). Το κύριο συστατικό του εμβολίου που ενοχοποιείται για τις αναφυλακτικές αντιδράσεις είναι η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) που βρίσκεται στη μεμβράνη των λιπιδίων, τα οποία σχηματίζουν το νανοσωματίδιο που περιβάλλει το mRNA και το βοηθά στη μεταφορά εντός του κυττάρου και στη

σταθερότητα αυτού. Από της περιπτώσεις αναφυλακτικών αντιδράσεων, το 80% φαίνεται να συνέβη σε άτομα με ιστορικό αναφυλαξίας, ενώ στο 90% των περιπτώσεων η αναφυλαξία συνέβη μέσα στα πρώτα 30 λεπτά από τη χορήγηση της δόσης. Για το λόγο αυτό, ενώ στο γενικό πληθυσμό συνιστάται παρακολούθηση 15 λεπτών μετά τη χορήγηση του εμβολίου, σε άτομα με ιστορικό αναφυλαξίας συνιστάται 30 λεπτά παρακολούθησης. Άλλες αλλεργικές αντιδράσεις που αναφέρονται περιλαμβάνουν εξάνθημα, κνησμό, αίσθημα κνησμού στον τράχηλο και ήπια συμπτώματα από το αναπνευστικό. Ελάχιστες περιπτώσεις παράλυσης Bell, αναφέρθηκαν μετά τον εμβολιασμό, σε μελέτες φάσης III, ωστόσο δεν έχει επιβεβαιωθεί η συσχέτιση. [25]

Τέλος, μια σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια που έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα είναι τα θρομβοεμβολικά επεισόδια. Τα εμβόλια ιικών φορέων έχουν ενοχοποιηθεί σε μεγαλύτερο βαθμό και μάλιστα το εμβόλιο της εταιρείας AstraZeneca τέθηκε σε προσωρινή αναστολή σε χώρες της Ευρωπαϊκής ένωσης για κάποιο διάστημα, μέχρι να αποφανθεί η Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (ΕΟΦ) ότι τα οφέλη του συγκεκριμένου εμβολίου είναι περισσότερα σε σύγκριση με τους κινδύνους από την νόσο COVID-19. Ωστόσο, σε πρόσφατη μελέτη των ανεπιθύμητων ενεργειών σε 360 εκατομμύρια εμβολιασμένους με εμβόλια mRNA (BNT123b2 και mRNA-1273) και εμβόλιο ιικού φορέα (ChAdOx1 nCoV-19/AZD122) φάνηκε ότι το ποσοστό θρομβοεμβολικών επεισοδίων είναι 0,21 [95% ΔΕ: 0,19-0,22] περιπτώσεις ανά ένα εκατομμύριο εμβολιασμένων ανά ημέρα. Και αντιστοίχως το ποσοστό φλεβικών θρομβώσεων ήταν 0,075 [95% ΔΕ: 0,07-0,08] και το ποσοστό αρτηριακών θρομβώσεων 0,13 [95% ΔΕ: 0,12-0,14] περιπτώσεις ανά εκατομμύριο εμβολιασμένων ανά ημέρα. Στα εμβόλια mRNA εμφανίζονται περισσότερες περιπτώσεις αρτηριακής θρόμβωσης περίπου 70%, έναντι 30% φλεβικές θρομβώσεις. Ενώ, σε αναλογία 1:1 εμφανίζονται φλεβικές και αρτηριακές θρομβώσεις στο εμβόλιο ιικών φορέων. Σε ποσοστό περίπου 1% εμφανίζεται εγκεφαλική θρόμβωση και στα δύο είδη εμβολίων, μια κατά τα άλλα σπάνια θρόμβωση, ενώ μεγαλύτερα ποσοστά έχει το εμβόλιο ιικών φορέων για την εμφάνιση συγκεκριμένα θρόμβωσης φλεβωδών κόλπων του εγκεφάλου. Τέλος, το εμβόλιο ιικών φορέων φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων σε συνδυασμό με θρομβοπενία ή/και την εμφάνιση θετικών αντιφωσfolιπιδικών αντισωμάτων, ή/και την εμφάνιση θετικών τεστ για θρομβοπενία επαγόμενη από την ηπαρίνη (HIT). Καθώς και από άλλες μελέτες επιβεβαιώνεται η εμφάνιση HIT μετά τον εμβολιασμό με εμβόλιο ιικού φορέα για SARS-CoV-2, έχει προταθεί η ονομασία του φαινομένου ως επαγόμενη από το εμβόλιο άνοση θρομβωτική θρομβοπενία (VITT). Άλλες συχνές φλεβικές και αρτηριακές θρομβώσεις των εμβολίων είναι οι εξής: πνευμονική εμβολή, θρόμβωση κάτω άκρων, εγκεφαλικό, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και εμβολές σπλάχνων και άκρων. Συνήθως, οι επιπλοκές αυτές εμφανίζονται έως 10 ημέρες μετά τη χορήγηση

του εμβολίου για το BNT126b2, έως 39 ημέρες για το mRNA-1273 και έως 16 ημέρες για το ChAdOx1 nCoV-19/AZD122. [6]

Αντισωματική απάντηση και απάντηση B-κυττάρων μνήμης μετά τον εμβολιασμό για SARS-CoV2 σε άτομα χωρίς προηγούμενη έκθεση και σε άτομα με προηγηθείσα λοίμωξη

Τα δύο βασικότερα αποτελέσματα της ενεργοποίησης της χυμικής ανοσιακής απάντησης, είτε μετά από λοίμωξη είτε μετά εμβολιασμό, είναι η παραγωγή αντισωμάτων από τα κύτταρα που παράγουν αντισώματα (ASC), τα οποία παρέχουν γρήγορα προστατευτική ανοσία και η παραγωγή B-κυττάρων μακράς διάρκειας ζωής, ικανά να ανακαλέσουν την ανοσιακή απάντηση καιρό μετά την πρώτη επαφή με το λοιμογόνο παράγοντα. Σε περίπτωση που τα είδη υπάρχοντα αντισώματα αποτύχουν να παρέχουν προστασία σε μια ενδεχόμενη επόμενη έκθεση στο αντιγόνο, τα B κύτταρα μνήμης ανακαλούν την απάντηση παράγοντας νέα αντισώματα μέσω του σχηματισμού νέων ASC κυττάρων ή επανενεργοποιούν το βλαστικό κέντρο για την παραγωγή νέων υψηλής συγγένειας B κυτταρικών κλώνων μέσω μίας σειράς μετατροπών. Η ανοσιακή χυμική μνήμη (αντισώματα και B-κύτταρα μνήμης), μετά τη λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV2, φαίνεται να διαρκεί περισσότερο από 8 μήνες μετά το πέρας των συμπτωμάτων. Όσον αφορά στον εμβολιασμό έναντι του SARS-CoV2 και την αποτελεσματικότητά του, υπάρχουν κλινικά δεδομένα που εστιάζουν στα δεσμευτικά και εξουδετερωτικά αντισώματα ως το κύριο στοιχείο για την αποτελεσματικότητά των εμβολίων και δεδομένα που εστιάζουν στην ανοσιακή μνήμη μέσω των B-κυττάρων μνήμης, τα οποία πιθανώς σχετίζονται με τη μακροχρόνια μνήμη, την απάντηση σε μια μεταγενέστερη επαφή με τον ιό και την απάντηση σε μία νέα μετάλλαξη αυτού. Ωστόσο, η επαγωγή της απάντησης των B-κυττάρων μνήμης καθώς και η συσχέτιση αυτής με την αντισωματική απάντηση δεν είναι πλήρως κατανοητή. Φαίνεται επίσης ότι η απάντηση μέσω αντισωμάτων και B-κυττάρων μνήμης διαφέρει μεταξύ των εμβολιασμένων που δεν έχουν εκτεθεί στον SARS-CoV2 και σε αυτούς που έχουν προηγουμένως νοσήσει από COVID-19. [47], [49], [50]

Τα δεδομένα από τις κλινικές δοκιμές φάσεις III, δεν είναι πάντα ικανά να απαντήσουν ορισμένα ερωτήματα που αφορούν τον εμβολισμό έναντι της COVID-19. Έτσι, το είδος της ανοσιακής απάντησης (κυτταρική ή χυμική), η διάρκεια της προστασίας από τον εμβολιασμό, η ενδεχόμενη ανάγκη για ενισχυτική δόση και ο χρόνος χορήγησης της, είναι ερωτήματα προς διερεύνηση. Επίσης η αποτελεσματικότητά του εμβολίου σε ειδικές πληθυσμιακές ομάδες, όπως οι ανοσοκατεσταλμένοι, τα άτομα με συννοσηρότητες, οι έγκυες και τα παιδιά και η επίδραση του εμβολιασμού στην ανοσία της αγέλης. Από την ημερομηνία αδειοδότησης των εμβολίων, η

επιστημονική κοινότητα έχει στραφεί στη διενέργεια μελετών παρατήρησης για την διευκρίνιση τέτοιων ερωτημάτων.

Σε μια μελέτη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, τυφλή, φάσης I/II που πραγματοποιήθηκε λίγους μήνες μετά την έναρξη της πανδημίας σε υγιείς ενήλικες, φάνηκε ότι δύο δόσεις mRNA εμβολίου επάγουν ενισχυμένη CD4⁺ και CD8⁺ T κυτταρική απάντηση ειδικών ως προς την RBD περιοχή της ακίδας, παραγωγή ιντερφερόνης-γ, ισχυρή αντισωματική απάντηση και συγκεντρώσεις IgG αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S παρόμοιες με αυτές που παράγονται σε ορούς ασθενών που ανάρρωσαν από COVID-19. Αντίστοιχα υψηλές είναι και οι συγκεντρώσεις των εξουδετερωτικών αντισωμάτων. [46], [52]

Σε άλλη κλινική δοκιμή, μετά τον εμβολιασμό με BNT126b2 σε ασθενείς χωρίς προηγούμενη έκθεση ανεδείχθη σημαντική αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων (anti S1/S2, ολικά Ig anti-RBD και IgG anti-RBD, anti-S1 IgA) τις πρώτες 12 ημέρες μετά τον πρώτο εμβολιασμό, ακολούθησε ένα πλάτο ως την 21 ημέρα και περαιτέρω αύξηση των αντισωμάτων μετά τη δεύτερη δόση με εμφάνιση μέγιστου τίτλου περίπου στις 35 ημέρες και σταθεροποίηση με μικρή πτώση του τίτλου στις 50 ημέρες. [29]

Όσον αφορά στους παράγοντες που σχετίζονται με την ανάπτυξη αντισωμάτων φαίνεται ότι η αυξημένη περίμετρος μέσης, το κάπνισμα, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία και η καθυστέρηση της δεύτερης δόσης του εμβολίου σχετίζονται με χαμηλότερο τίτλο αντισωμάτων, σε συσχέτιση με την ηλικία, το φύλο και τον δείκτη μάζας σώματος. Έτσι, πιθανώς η χορήγηση ενισχυτικής δόσης εμβολίου σε καπνιστές, ασθενείς με κεντρική παχυσαρκία και υπέρταση θα πρέπει να γίνεται σε συντομότερο χρονικό διάστημα. [11]

Η ευπάθεια των ηλικιωμένων ατόμων για νόσο COVID-19, φαίνεται να είναι μεγαλύτερη σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, όπως επίσης φαίνεται ότι η ανοσολογική απάντηση των ηλικιωμένων είναι μειωμένη. Σε μία μελέτη με 102 ασθενείς που διαμένουν σε γηροκομείο ανεδείχθη πολύ υψηλότερος τίτλος αντισωμάτων μετά τον πρώτο εμβολιασμό σε ηλικιωμένους με προηγούμενη μόλυνση (ασυμπτωματικούς ή συμπτωματικούς) από SARS-CoV-2 σε σύγκριση με τα άτομα χωρίς προηγούμενη έκθεση στον ιό. [10]

Σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και συμπαγείς όγκους φαίνεται η αποτελεσματικότητα να είναι χαμηλή μετά την πρώτη δόση mRNA SARS-CoV-2 εμβολίου, περίπου το 25% των ασθενών αναπτύσσουν anti-S IgG αντισώματα. Η ανοσογονικότητα του εμβολίου αυξάνεται σημαντικά όμως μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου στους ασθενείς με συμπαγείς όγκους. Δεν

παρατηρήθηκε τοξικότητα από το εμβόλιο, ούτε περισσότερες παρενέργειες σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Έτσι, πιθανώς να είναι σημαντική η προτεραιοποίηση των ασθενών με κακοήθεια για τη λήψη των δύο δόσεων του εμβολίου. [14], [24]

Σε μία ακόμη μελέτη με 42 ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση καρδιάς και έλαβαν mRNA εμβόλιο, 50% των συμμετεχόντων δεν ανέπτυξε αντισώματα IgG anti-S μετά από 2 δόσεις εμβολίου, αυτό πιθανώς να οφείλεται στη λήψη ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Πιθανώς θα πρέπει να μελετηθεί η χορήγηση επιπρόσθετης δόσης σε αυτή την ομάδα ασθενών. [28]

Οι έγκυες γυναίκες έχουν αυξημένο κίνδυνο θνητότητας από την νόσο COVID-19, ωστόσο έχουν εξαιρεθεί από κλινικές δοκιμές φάσης III, έτσι δεδομένα για την ασφάλεια και την ανοσογονικότητα των εμβολίων είναι ελάχιστα. Σε μία μελέτη που περιελάμβανε εγκύους, θηλάζουσες και μη έγκυες γυναίκες ηλικίας 18 έως 45 ετών, που εμβολιάστηκαν με mRNA εμβόλιο, ανεδείχθη παραγωγή δεσμευτικών, εξουδετερωτικών και μη-εξουδετερωτικών αντισωμάτων καθώς και CD4 και CD8 T-κυτταρική απάντηση μετά τον εμβολιασμό. Δεσμευτικά και εξουδετερωτικά αντισώματα ανευρέθηκαν στο αίμα νεογνικού ομφαλίου λώρου και στο μητρικό γάλα. Επίσης, δεσμευτικά και εξουδετερωτικά αντισώματα έναντι των μεταλλάξεων B.1.1.7 και B.1.351, ανιχνεύθηκαν ωστόσο σε μικρότερους τίτλους, όπως επίσης T-κυτταρική απάντηση. [20]

Η ανοσογονικότητα των εμβολίων έναντι των μεταλλαγμένων στελεχών είναι ασαφής. Σε μία μελέτη που αφορούσε το στέλεχος SARS-CoV-2 B.1.1.7 ερευνήθηκε η ανοσολογική απάντηση συμμετεχόντων που έλαβαν το εμβόλιο BNT162b2. Μετρήθηκαν τα εξουδετερωτικά αντισώματα μετά τις δύο δόσεις εμβολίου, χρησιμοποιώντας ψευδοϊούς που εκφράζουν είτε τον άγριο τύπο της ακίδας είτε μεταλλαγμένες πρωτεΐνες της ακίδας που περιέχουν τις 8 αλλαγές αμινοξέων που βρίσκονται στη μετάλλαξη B.1.1.7. Οι τίτλοι των εξουδετερωτικών αντισωμάτων στους ορούς των συμμετεχόντων έναντι του άγριου τύπου του ψευδοϊού ήταν υψηλότεροι σε σύγκριση με τους τίτλους έναντι του μεταλλαγμένου στελέχους. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε χαμηλή εξουδετερωτική ικανότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων που στοχεύουν την περιοχή του νουκλεοκαψιδίου και τμήμα της περιοχής πρόσδεσης του υποδοχέα του B.1.1.7. [17]

Σε μια πρόσφατη μελέτη συγκρίθηκε η χυμική ανοσιακή απάντηση (παραγωγή αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης ακίδας και έναντι της περιοχής του υποδοχέα σύνδεσης της ακίδας-RBD και B-κυττάρων μνήμης), σε εμβολιασμένους με mRNA εμβόλιο έναντι του SARS-CoV2, χωρίς προηγούμενη έκθεση και σε αυτούς που είχαν προηγουμένως νοσήσει από COVID-19. Αρχικά,

φαίνεται ότι ο εμβολιασμός ενισχύει-αυξάνει τα επίπεδα αντισωμάτων γρηγορότερα στα άτομα με προηγούμενη έκθεση στον SARS-CoV2 σε σχέση με αυτούς χωρίς προηγούμενη επαφή. Η απάντηση των Β-κυττάρων μνήμης μετά από την πρώτη δόση του εμβολίου επάγεται ταχέως στα άτομα με προηγούμενη έκθεση στον SARS-CoV2, αλλά δεν παρατηρείται αντίστοιχη επαγωγή μετά τη δεύτερη δόση (φτάνει σε πλατό), πράγμα που γεννά ερωτήματα σχετικά με την αναγκαιότητα συμπλήρωσης δύο δόσεων εμβολίου σε ασθενείς που αναρρώνουν από COVID-19 ή/και την καλύτερη κατανομή των εμβολίων στο γενικό πληθυσμό. Σε αντίθεση, η Β-κυτταρική απάντηση συνεχίζει να βελτιώνεται μετά τη δεύτερη δόση στα άτομα χωρίς προηγούμενη έκθεση. Παρόλο που φαίνεται ότι όλες οι ηλικιακές ομάδες επάγουν ορολογική και κυτταρική ανοσία, η επαγωγή της Β-κυτταρικής απάντησης φθίνει με το πέρας της ηλικίας. [4], [19]

Ενώ, δεν έχει αποσαφηνιστεί αν οι συστηματικές παρενέργειες από τον εμβολιασμό με mRNA εμβόλιο έναντι του SARS-CoV2 επηρεάζουν τον τίτλο αντισωμάτων, οι ανεπιθύμητες ενέργειες δε φαίνεται να σχετίζονται με την επαγωγή της απάντησης των Β-κυττάρων μνήμης. Φαίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παραγωγής αντισωμάτων και Β-κυττάρων μνήμης σε άτομα χωρίς προηγούμενη έκθεση, πράγμα που ίσως δείχνει ότι η βραχυπρόθεσμη μέτρηση αποκλειστικά των αντισωμάτων δεν είναι αρκετή για να προβλέψει τη μακροχρόνια ανοσία που επάγεται από τον εμβολιασμό. Η διαπίστωση της παρουσίας των Β-κυττάρων πριν τον εμβολιασμό σε ασθενείς που αναρρώνουν από COVID-19 και η συσχέτιση τους με την παραγωγή αντισωμάτων ενισχύει περαιτέρω την ανάγκη μέτρησης των Β-κυττάρων μνήμης. Συγκεκριμένα αυτή η συσχέτιση αναδεικνύει το ρόλο των αντιγόνο-ειδικών Β-κυττάρων μνήμης ως πηγή παραγωγής νέων κυττάρων που παράγουν αντισώματα από το βλαστικό κέντρο. Ακόμα και αν ο τίτλος εξουδετερωτικών αντισωμάτων μπορεί στην περιφέρεια να είναι αρκετός για την επαγωγή ανοσίας σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως σε περίπτωση μεγάλου ιικού φορτίου ή μεταλλαγμένου ιού ή ακόμα σε περίπτωση που τα αντισώματα φθίνουν με τον καιρό, τα Β-κύτταρα μνήμης φαίνεται να είναι ικανά να παράγουν γρήγορα προστατευτικά αντισώματα όταν υπάρξει επανέκθεση στο γνωστό αντιγόνο ή να διαφοροποιηθούν ταχέως σε περίπτωση νέου στελέχους. Η σκέψη για μελλοντική ενισχυτική δόση εμβολίου m-RNA στοχεύει στην ενεργοποίηση των αντιγόνο-ειδικών Β-κυττάρων μνήμης. [15], [19]

Ένα ακόμα ερευνητικό ερώτημα που προκύπτει για τον εμβολιασμό είναι η ανοσιακή απάντηση των ατόμων με προηγούμενη νόσηση από COVID-19. Φαίνεται ότι, παρ' όλο που τα επίπεδα αντισωμάτων σταδιακά υποχωρούν μετά τη λοίμωξη με τον ιό SARS-CoV-2, η ανοσιακή μνήμη παραμένει για μήνες. Μια δόση εμβολίου είναι αρκετή να προκαλέσει γρήγορη και ενισχυμένη παραγωγή αντισωμάτων σε σχέση με τα άτομα που δεν έχουν εκτεθεί στον ιό στο παρελθόν. Έτσι,

σε πολλές μελέτες αναδεικνύεται επαρκής ανοσιακή απάντηση με μία δόση εμβολίου στους συμπτωματικούς ασθενείς με νόσο COVID-19. Στους ασυμπτωματικούς ασθενείς με θετική PCR, οι τίτλοι των αντισωμάτων φαίνεται να είναι αυξημένοι και πολλαπλάσιοι σε σχέση με τα μη εκτεθημένα στον ιό άτομα, αλλά όχι όσο υψηλά όσο στους ασθενείς με συμπτωματική νόσο. Η καθυστέρηση της πραγματοποίησης της δεύτερης δόσης ή η παράλειψή της συζητάτε για τα άτομα με μόλυνση από SARS-CoV-2, έτσι ώστε να προτεραιοποιηθούν άτομα κατά τη διάρκεια της πανδημίας που θα ωφεληθούν περισσότερο από το εμβόλιο. [1], [45], [48]

Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε υγιεινομικούς με ή χωρίς προηγούμενη νόσηση από COVID-19 που έλαβαν m-RNA εμβόλιο, ανεδείχθη σαφώς υψηλότερος τίτλος εξουδετερωτικών αντισωμάτων και ταχεία αύξηση των anti-RBD IgG αντισωμάτων (στις πρώτες 7 ημέρες από τον πρώτο εμβολιασμό) στους υγιεινομικούς με προηγούμενη μόλυνση στον ιό. Ο τίτλος των εξουδετερωτικών αντισωμάτων 7 ημέρες μετά τον πρώτο εμβολιασμό στους υγιεινομικούς με προηγούμενη νόσηση ήταν παραπλήσιος του τίτλου των αντισωμάτων 7 ημέρες μετά το δεύτερο εμβολιασμό στα άτομα χωρίς προηγηθείσα μόλυνση. Σαφώς αναδεικνύεται ότι μία δόση εμβολίου είναι επαρκής για να επάγει αποτελεσματική ανοσιακή απάντηση. [12],[22],[18] Ίδια ευρήματα παρατηρήθηκαν και σε αρκετές ακόμα μελέτες εμβολιασμένων ατόμων με ή χωρίς προηγούμενη μόλυνση από τον ιό SARS-CoV-2, όπου σαφώς η χυμική απάντηση (τίτλοι αντισωμάτων έναντι της S1,S2, RBD και εξουδετερωτικών αντισωμάτων) των ατόμων με προηγούμενη νόσηση είναι πολύ πιο ενισχυμένη μετά την πρώτη δόση του εμβολίου, 100 φορές περισσότερο σε σχέση με τα προ εμβολιασμού υψηλότερα επίπεδα αντισωμάτων των ίδιων, και τουλάχιστον 10 φορές περισσότερο σε σχέση με μη μολυσμένα άτομα που έλαβαν 2 δόσεις εμβολίου. [3],[7],[9],[16]

Όσον αφορά τις παρενέργειες μετά τον εμβολιασμό, τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα, χωρίς ωστόσο να φαίνεται να υπάρχει ισχυρή συσχέτιση των ανεπιθύμητων ενεργειών και τις ανοσιακής απάντησης. Σε ορισμένες μελέτες δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των υγιεινομικών με ή χωρίς προηγούμενη νόσο σε σχέση με την εμφάνιση παρενεργειών. Ενώ σε άλλες, αναφέρεται η ύπαρξη παρόμοιων παρενεργειών στη δεύτερη δόση στα άτομα χωρίς προηγούμενη μόλυνση με τον ιό SARS-CoV-2 και στην πρώτη δόση στα άτομα με προηγούμενη νόσηση. [8],[13]

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια μη τυχαιοποιημένη, μελέτη παρατήρησης, σκοπός της οποίας είναι η αξιολόγηση της επαγόμενης αντισωματικής-χυμικής απάντησης, μετά τον εμβολιασμό με δύο δόσεις του εμβολίου COVID-19 mRNA BNT162b2 έναντι του SARS-COV-2, καθώς και η διάρκεια της ανοσίας.

Λόγω της άμεσης ανάγκης ανοσοποίησης του πληθυσμού και ενόσω έχει ξεκινήσει ο εμβολισμός του πληθυσμού λίγα δεδομένα υπάρχουν σχετικά με την αποτελεσματικότητα του εμβολίου όσον αφορά την διάρκεια και το είδος της ανοσίας (χυμική ή κυτταρική) που αυτό επιφέρει. Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα αναμένεται η παραγωγή αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S μετά τον αρχικό εμβολιασμό μεταξύ 2ης έως 6ης εβδομάδας, ενώ δεν αναμένεται η παραγωγή αντισωμάτων έναντι του νουκλεοκαψιδίου, αφού αυτά θα παραχθούν μόνο σε περίπτωση έκθεσης στον ιό. Ωστόσο παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργητική ανοσοποίηση: ηλικία, φύλο, συννοσηρότητες και φαρμακευτική αγωγή, προϋπάρχουσα ανοσοκαταστολή ανοσοανεπάρκεια και καπνιστική συνήθεια δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. [35],[58]

Πρωτεύον ερώτημα της μελέτης είναι η επαγωγή ή μη αντισωματικής απάντησης μετά την ενεργητική ανοσοποίηση με εμβόλιο έναντι του SARS-CoV-2. Το είδος των παραγόμενων αντισωμάτων και η ικανότητα τους να εμποδίσουν την μόλυνση από τον ιό, τη νόσηση από COVID-19 και την ανάγκη νοσηλείας. Η χρονική διάρκεια της απάντησης, η έναρξη και η διατήρηση της χυμικής ανοσίας.

Δευτερεύοντα ερωτήματα της μελέτης είναι η αξιολόγηση των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων. Η επίδραση της ηλικίας, του φύλου, των συννοσηροτήτων και της φαρμακευτικής αγωγής, της ανοσοανεπάρκειας στην επαγωγή της χυμικής ανοσίας. Η ενδεχόμενη διαφορά στην αντισωματική απάντηση μετά τον πρώτο και δεύτερο εμβολιασμό μεταξύ των συμμετεχόντων με νόσησαν από COVID-19 και αυτών που δεν έχουν μολυνθεί από τον ιό SARS-CoV-2. Η πιθανή επίδραση των ανεπιθύμητων ενεργειών στον παραγόμενο τίτλο αντισωμάτων.

Άλλα ερευνητικά ερωτήματα που δε είναι εφικτό να απαντηθούν στην παρούσα μελέτη είναι η επαγωγή της κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό, το γενετικό προφίλ των συμμετεχόντων που δεν ανέπτυξαν αντισώματα σε ενδεχόμενη λοίμωξη από SARS-CoV2 μετά τον εμβολιασμό. Ο απαιτούμενος τίτλος αντισωμάτων για τη διασφάλιση ανοσίας έναντι του SARS-CoV2. Τέλος, αν

ο λόγος εκδήλωσης συμπτωμάτων COVID-19, μετά από εμβολιασμό και μόλυνση από τον ιό, είναι ο τίτλος αντισωμάτων ή πιθανώς άλλοι παράγοντες όπως η μετάλλαξη του ιού.

ΗΘΙΚΗ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μέρος μίας μεγαλύτερης μελέτης, η οποία πραγματοποιείται σε συνεργασία του τμήματος Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας (Διευθυντής Καθηγητής Μ. Σπελέτας) και του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας (Διευθυντής Καθηγητής Χ. Χατζηχριστοδούλου), του κλινικοεργαστηριακού τομέα του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η μελέτη με τίτλο «Μελέτη επαγωγής χυμικής και κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό COVID-19», έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, αριθμός και ημερομηνία απόφασης: 4/ 12.02.2021. Για την διενέργεια της παρούσης μελέτης, χρησιμοποιήθηκε η έγκριση, το έντυπο συγκατάθεσης και τα ερωτηματολόγια που σχεδιάστηκαν για τη μεγαλύτερη μελέτη, τα οποία και επισυνάπτονται στο παράρτημα Ι. Τα δεδομένα και τα αποτελέσματα θα χρησιμοποιηθούν μόνο για της ανάγκες της δεδομένης διπλωματικής εργασίας. Σκοπός της εργασίας δεν είναι η δημοσίευση των δεδομένων και αποτελεσμάτων.

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στη μελέτη θα συμμετέχουν άτομα που εμβολιάζονται με COVID-19 mRNA BNT162b2, προσωπικό του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και τρόφιμοι του Δημοτικού Γηροκομείου Λάρισας. Η επιλογή των συμμετεχόντων θα είναι τυχαία και ανεξάρτητη των κλινικών χαρακτηριστικών τους, με μόνο κριτήριο τη συμπλήρωση συγκεκριμένων ατόμων σε κάθε προκαθορισμένη ηλικιακή ομάδα και την ύπαρξη όλων των απαιτούμενων δεδομένων τη χρονική διάρκεια της συγγραφής (συμπληρωμένα ερωτηματολόγια, συγκατάθεση και δείγματα σε όλες τις προγραμματισμένες επισκέψεις).

Δείγματα αίματος (4-6 ml ολικού αίματος, θα τοποθετηθούν σε πλαστικά σωληνάρια με παρουσία γέλης και επιταχυντή πήξης για το διαχωρισμό του ορού από τα ερυθρά) θα συλλεχθούν στην πρώτη επίσκεψη (πρώτη δόση του εμβολίου- έλεγχος αναφοράς) , στη δεύτερη επίσκεψη (δεύτερη δόση του εμβολίου- 21 ημέρες από την πρώτη δόση), 42 ημέρες (6 εβδομάδες) μετά την πρώτη δόση, 3 μήνες (90 ημέρες) από την πρώτη δόση του εμβολίου. Καθώς η μελέτη συνεχίζεται μέχρι σήμερα, είναι προγραμματισμένη η αιμοληψία στους 6 μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου και στους συμμετέχοντες με ικανοποιητικό τίτλο αντισωμάτων στη φάση αυτή, υπολογίζεται να

πραγματοποιηθούν αιμοληψίες στους 9 μήνες και στο χρόνο από τον πρώτο εμβολιασμό. Τα δείγματα αίματος θα φυγοκεντρηθούν (για 10 λεπτά στις 3.500 στροφές/λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου) εντός των πρώτων 4 ωρών από τη δειγματοληψία. Ο προκύπτων ορός (το υπερκείμενο) στη συνέχεια, αφού τοποθετηθεί σε απλό πλαστικό φιαλίδιο θα αποθηκεύεται στους -20°C, για μελλοντική χρήση.

Όλοι οι συμμετέχοντες θα υπογράψουν έντυπο συγκατάθεσης, που αφορά τον έλεγχο αντισωματικών και κυτταρικών απαντήσεων, όσο και την πιθανή γενετική ανάλυση των δειγμάτων, την ημέρα της πρώτης αιμοληψίας. Στο έντυπο αυτό υπογραμμίζεται η ανώνυμη καταγραφή των πληροφοριών σε ενδεχόμενη δημοσίευση, σύμφωνα με τον κώδικα δεοντολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και η δυνατότητα των συμμετεχόντων να ενημερωθούν για τα αποτελέσματα. Επίσης, την ημέρα της πρώτης αιμοληψίας, θα συμπληρωθεί το ερωτηματολόγιο με τα δημογραφικά χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων (ηλικία, φύλο, ιατρικό ιστορικό και πιθανή λήψη φαρμάκων). Την ημέρα της 3^{ης} αιμοληψίας (42^η ημέρα από τον εμβολιασμό), θα συμπληρωθεί έντυπο παρακολούθησης, που αφορά τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες του πρώτου και δεύτερου εμβολιασμού και πιθανές μεταβολές στην υγεία των συμμετεχόντων. Παρόμοιο ερωτηματολόγιο θα συμπληρωθεί την ημέρα της 5^{ης} αιμοληψίας (6 μήνες από τον πρώτο εμβολιασμό).

Στα δείγματα θα γίνει προσδιορισμός των IgG και IgA αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S, με τη με τη μέθοδο της ELISA στο εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, και των αντισωμάτων N και των IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας στο εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας. Οι απαντήσεις μετά τον εμβολιασμό αναμένεται να είναι anti-S (αφού χορηγείται μόνο mRNA για την πρωτεΐνη της ακίδας S), η πιθανή ανίχνευση anti-N αντισωμάτων υποδηλώνει αντισωματική απάντηση μετά από μόλυνση από τον ιό SARS-CoV-2. [Παράρτημα II]

Οι τέσσερις διαφορετικές ανοσοδοκιμασίες που θα χρησιμοποιηθούν στη παρούσα μελέτη για την αξιολόγηση των ορών των συμμετεχόντων είναι οι εξής:

1. **Abbott IgG (Abbott, Illinois, U.S.A)**, είναι μια ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας (CMIA) αυτοματοποιημένη, δύο βημάτων, για την ποιοτική ανίχνευση IgG αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου (N) του SARS-CoV-2, στον ανθρώπινο ορό και πλάσμα.

Διαδικασία:

Το δείγμα, παραμαγνητικά μικροσωματίδια καλυμμένα SARS-CoV-2 αντιγόνα και ο διαλύτης αναμειγνύονται και επωάζονται. Τα IgG αντισώματα έναντι του SARS-CoV-2 που βρίσκονται στο δείγμα συνδέονται με τα αντιγόνα. Το διάλυμα ξεπλένεται. Στην συνέχεια προστίθεται σημασμένος ορός με ακρινίδιο για να κάνει αντίδραση με το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος. Το διάλυμα επωάζεται. Η αντίδραση χημειοφωταύγειας στη συνέχεια μετράτε ως σχετική μονάδα φωτός (RLU). Η παρουσία ή μη αντισωμάτων στη συνέχεια μετράτε ως αντίδραση στο μετρητή RLU, που υπολογίζεται από το σύστημα ως δείκτη S/C. $S/C \geq 1.4$ μετράτε ως θετικό, ενώ $S/C < 1.4$ μετράτε αρνητικό.

2. **Abbott AdviseDx SARS-CoV-2 IgG II (Abbott, Illinois, U.S.A)**, είναι μια ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας (CMIA) αυτοματοποιημένη, δύο βημάτων, για την ημιποσοτική και ποιοτική ανίχνευση IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, στον ανθρώπινο ορό και πλάσμα.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι όμοια με την Abbott IgG, ωστόσο υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ του τίτλου της IgG και της RLU. Έτσι το κατώφλι είναι τα 50,0AU/mL, $\geq 50,0\text{AU/mL}$ υπολογίζεται ως θετικό. Αναλυτικό διάστημα μέτρησης (AMI) υπολογίζεται μεταξύ 22,0-25.000,0 και εκτεταμένο διάστημα μέτρησης (EMI) υπολογίζεται μεταξύ 25.000,0-50.000,00 AU/mL.

3. **GA-GENERIC CoV-2 IgG (GA GENERIC ASSAYS GmbH, Dahlewitz, Germany)**, είναι μια ανοσοδοκιμασία που πραγματοποιείται με συνδεδεμένο με ένζυμο ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA) σε ορό ή πλάσμα ασθενών. Η μέθοδος αυτή προσδιορίζει ποιοτικά και ημιποσοτικά τα IgG αντισώματα έναντι του αντιγόνου S και N του SARS-CoV-2 (ανασυνδυασμένο). Ο δείκτης σύνδεσης (BI) μετρήθηκε από το λόγο OD των δειγμάτων και χαρακτηρίζονται ως θετικά όταν το BI είναι $\geq 1,1$, αρνητικά $< 1,1$ ή αμφίβολα μεταξύ 0,9-1,1.

Διαδικασία:

Τα αντισώματα του ορού των ασθενών αντιδρούν με τα αντιγόνα που έχουν σταθεροποιηθεί πάνω σε μια μικροτιτλοδοτημένη πλάκα. Η χρήση ανασυνδυασμένων αντιγόνων εγγυάται την ειδική σύνδεση των αντισωμάτων του δείγματος. Ακολουθεί επώαση για 45λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα τα μη προσδεμένα στοιχεία ξεπλένονται. Στη συνέχεια, τα συνδεδεμένα IgG αντισώματα αντιδρούν ειδικά με αντι-ανθρώπινα IgG συνδεδεμένα με υπεροξειδάση αγριοράπανου (HRP). Το διάλυμα επωάζεται και ξεπλένεται. Η HRP μετατρέπει το άχρουν διάλυμα τετραμεθυλβενζιδίνης σε μπλε προϊόν, Στη συνέχεια η αντίδραση σταματά με την προσθήκη ενός διαλύματος οξέος και το διάλυμα από μπλε γίνεται κίτρινο. Η οπτική

πυκνότητα (OD) του διαλύματος που μετράτε στα 450nm είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα της συγκεκριμένης ειδικής αντισωματικής σύνδεσης.

4. **SERION ELISA agile SARS-CoV-2 IgA (VERION/SERION, Würzburg, Germany)**, είναι μια ανοσοδοκιμασία ELISA σε ορό ή πλάσμα ασθενών. Η μέθοδος προσδιορίζει ποιοτικά και ποσοτικά τα IgA αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης N και της ολικής πρωτεΐνης S (S1/S2) του SARS-CoV-2, κάθε ένα ανασυνδυασμένα εκφρασμένο σε ευκαρυωτικά κύτταρα. Θετικά χαρακτηρίζονται τα δείγματα που έχουν τιμή >14 U/mL, αρνητικά <10 U/mL και αμφίβολα μεταξύ 10-14 U/mL.

Διαδικασία:

Τα αντισώματα του ορού των ασθενών αντιδρούν με τα αντιγόνα που έχουν σταθεροποιηθεί πάνω σε μια μικροτιτλοδοτημένη πλάκα. Ακολουθεί επώαση για 45λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα τα μη προσδεμένα στοιχεία ξεπλένονται. Στη συνέχεια, τα συνδεδεμένα IgG αντισώματα αντιδρούν ειδικά με αντι-ανθρώπινα IgG συνδεδεμένα με το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση. Στο διάλυμα προστίθεται άχρουν p-νιτροφαινυλφωσφορικό που μετατρέπεται σε έγχρωμο προϊόν, την p-νιτροφαινόλη. Η ένταση του σήματος που παράγεται είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του αντισώματος στο δείγμα και μετράτε με φωτόμετρο.

Με τη χρήση της ως άνω μεθοδολογίας αναμένεται να αξιολογηθούν τα παρακάτω:

1. Η επαγόμενη χυμική ανοσία σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες, αλλά και σε άτομα με διαφορετικό νοσολογικό υπόστρωμα (π.χ. σε ασθενείς με χρόνια νοσήματα, όπως η αρτηριακή υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης και αυτοάνοσα νοσήματα).
2. Αναμένεται να εκτιμηθεί το χρονικό διάστημα διατήρησης της χυμικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό.
3. Διαφορές στην παραγωγή αντισωμάτων μεταξύ των συμμετεχόντων που νόσησαν και σε αυτούς που δεν έχουν μολυνθεί από τον SARS-CoV-2.
4. Επίσης, αναμένεται να εκτιμηθεί κατά πόσο ο εμβολιασμός απέτρεψε την ενδεχόμενη μόλυνση και νόσο COVID-19.
5. Τέλος, βάσει των δεδομένων για τις ανεπιθύμητες ενέργειες μπορεί να αξιολογηθεί η συσχέτιση εμφάνισης τους με την ανάπτυξη καλύτερης ανοσιακής απάντησης.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο (Statistical Package for Social Science-SPSS), έκδοση 28.0.0.0. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος (Mean), τυπική απόκλιση (Standard Deviation-SD) και διάστημα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ), σύμφωνα με τις κατανομές. Η κανονικότητα εξετάστηκε με Kolmogorov-Smirnov τεστ. Για τη συγκριτική ανάλυση μεταβλητών ανάμεσα σε >2 ομάδες χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ANOVA (Kruskal-Wallis test). Η διόρθωση με Bonferroni χρησιμοποιήθηκε σε περιπτώσεις πολλαπλής σύγκρισης για τη διαπίστωση της σημαντικότητας στις συγκρίσεις των αντισωμάτων μεταξύ των ηλικιακών ομάδων. Mann-Whitney U test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση του τίτλου των αντισωμάτων και ορίστηκε στατιστική σημαντικότητα ως $P < 0,05$. Μοντέλα μονοπαραγοντικής και πολυπαραγοντικής γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση της σχέσης μεταξύ των αντισωμάτων (ως εξαρτημένη μεταβλητή) και των κλινικών χαρακτηριστικών: φύλο, ηλικία, συννοσηρότητες, ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τον εμβολιασμό, προηγούμενη μόλυνση με SARS-CoV-2 (ως ανεξάρτητες μεταβλητές).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη συμμετείχαν 102 άτομα, στους οποίους χορηγήθηκε το εμβόλιο COVID-19 mRNA BNT162b2. Οι συμμετέχοντες εμβολιάστηκαν με δύο δόσεις του εμβολίου, κάθε δόση του οποίου περιέχει 0,3ml διαλυμένου φαρμάκου και χορηγείται σε μεσοδιάστημα 21ημερών. Οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες, καυκάσιοι, άνω των 18 ετών και κατηγοριοποιήθηκαν στις κάτωθι ηλικιακές ομάδες: 18-49 ετών (Α ομάδα), 50-69ετών (Β ομάδα) και ≥ 70 ετών (ομάδα Γ). Οι 58 συμμετέχοντες είναι προσωπικό του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας και οι υπόλοιποι 44 είναι ηλικιωμένοι που διαμένουν στο Δημοτικό Γηροκομείο Λάρισας. Από τους συμμετέχοντες ένας δεν ολοκλήρωσε το δεύτερο εμβολιασμό λόγω εμφάνισης αναφυλακτικής αντίδρασης. Ο εμβολιασμός του προσωπικού του νοσοκομείου ξεκίνησε στις 29 Δεκεμβρίου 2020 και ως το τέλος του Ιανουαρίου όλοι οι συμμετέχοντες είχαν λάβει την πρώτη δόση του εμβολίου. Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 12 άτομα με μόλυνση από SARS-CoV-2 (συμπτωματική ή ασυμπτωματική), η οποία επιβεβαιώθηκε είτε με την παρουσία anti-N αντισωμάτων, είτε με θετική PCR πριν τον εμβολιασμό.

Σε όλους τους συμμετέχοντες έγιναν αιμοληψίες στους χρόνους: 21 ημέρες, 42 ημέρες και 3 μήνες. Στα δείγματα από τις αιμοληψίες των 21ημέρων, 42 ημέρων μετρήθηκε η αντισωματική

απάντηση έναντι του εμβολίου με 4 μεθόδους: IgG και IgA αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης S με τη μέθοδο της ELISA (εκτός από 2 συμμετέχοντες), αντισώματα N και IgG έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας (CMIA), ενώ στους 3 μήνες μετρήθηκαν μόνο τα αντισώματα N και IgG έναντι της RBD με τη μέθοδο CMIA (λόγω μη διαθέσιμων αντιδραστηρίων για τη μέθοδο ELISA, τη δεδομένη χρονική στιγμή) και για το λόγω αυτό αποφασίστηκε η σύγκριση των δεδομένων να γίνει κυρίως ως προς τα αντισώματα IgG έναντι της RBD της πρωτεΐνης της ακίδας με τη μέθοδο CMIA. [ΠΙΝΑΚΑΣ 1]

Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι οι απαντήσεις μετά των εμβολιασμό θα είναι πάντα anti-S, η πιθανή ανίχνευση anti-N αντισωμάτων υποδηλώνει αντισωματική απάντηση μετά τη νόσηση από τον ιό SARS-CoV-2 και ανάλογα με τη φάση ανίχνευσής τους μπορεί να προσδιοριστεί αδρά χρονικά η περίοδος μόλυνσης από τον ιό. Ωστόσο, καθ' όλη τη διάρκεια της πανδημίας, το προσωπικό του νοσοκομείου και οι τρόφιμοι του γηροκομείου, υποβάλλονταν σε μοριακό έλεγχο RT-PCR, από ρινοφαρυγγικό επίχρισμα, για την επιβεβαίωση μόλυνσης από SARS-CoV-2, σε περίπτωση που εμφάνιζαν συμπτώματα, δεδομένα που επίσης χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης. Σε δεύτερο χρόνο, μπορεί να αξιολογηθεί, κατά πόσον τα παραγόμενα αντισώματα μετά τον εμβολιασμό είναι εξουδετερωτικά και μπορούν να αποτρέψουν την εμφάνιση μέτριας ή σοβαρής νόσου COVID-19 και εισαγωγής στο νοσοκομείο.

Από τους 102 συμμετέχοντες, στις 21 ημέρες οι 83(81%) ανέπτυξαν IgG anti-RBD CMIA, 68(68%) ανέπτυξαν IgG anti-S ELISA, 28(28%) ανέπτυξαν IgA anti-S ELISA και 9 (8%) είχαν anti-N CMIA. Στις 42 ημέρες, οι 98(96%) είχαν IgG anti-RBD CMIA, 96(96%) είχαν IgG anti-S ELISA, 77(77%) ανέπτυξαν IgA anti-S ELISA και 8(8%) είχαν anti-N CMIA. Στους 3 μήνες, οι 98(96%) είχαν IgG anti-RBD CMIA και 9(9%) είχαν anti-N CMIA. Στο παράρτημα III περιέχονται οι πίνακες με τα αποτελέσματα από τις 3 άλλες μεθόδους, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται αναλυτικά τα δημογραφικά χαρακτηριστικά (ηλικιακές ομάδες, φύλο, συννοσηρότητες), οι ανεπιθύμητες ενέργειες και θετικό αποτέλεσμα PCR για SARS-CoV-2 πριν ή μετά τον εμβολιασμό.

Επαγόμενη χυμική ανοσία σε σχέση με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά

Από τους 102 συμμετέχοντες, οι 36 (35%) ήταν **άντρες**, και οι 66 (65%) ήταν **γυναίκες**. Ενενήντα (88%) συμμετέχοντες δεν είχαν ποτέ θετική PCR, 10(10%) είχαν **θετική PCR** πριν τον εμβολιασμό, 7 από τους 10 είχαν anti-N CMIA στις 21 ημέρες (δηλαδή μόλυνση από SARS-CoV-2 που δεν είχε γίνει αντιληπτή) και βρέθηκαν 2(2%) συμμετέχοντες χωρίς θετική PCR στο

παρελθόν που είχαν θετικά anti-N CMIA, εκ των οποίων ο ένας αρνητικοποίησε τα anti-N CMIA στις 42 ημέρες.. Από τους συμμετέχοντες με θετικά anti-N CMIA, και οι 12 είχαν anti-RBD CMIA αντισώματα.

Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε 3 **ηλικιακές ομάδες** (Α ομάδα: 18 έως 49, Β ομάδα: 50 έως 69 ετών, Γ ομάδα: >70 ετών). Κάθε ηλικιακή ομάδα συμπεριελάμβανε 34 συμμετέχοντες. Στις 21 ημέρες, 33 από τους 34(97%) ανέπτυξαν αντισώματα anti-RBD CMIA στην ηλικιακή ομάδα Α, 30(88%) στην ηλικιακή ομάδα Β και 20(59%) στην ομάδα Γ. Στις 42 ημέρες, 34(100%) είχαν αντισώματα στην ηλικιακή ομάδα Α, 33(97%) στην ηλικιακή ομάδα Β και 31(91%) στην ομάδα Γ. Στους 3 μήνες, 34(100%) είχαν αντισώματα στην ηλικιακή ομάδα Α, 33(97%) στην ηλικιακή ομάδα Β και 31(91%) στην ομάδα Γ.

Από το σύνολο των συμμετεχόντων, 68 (67%) άτομα είχαν τουλάχιστον μία **συννοσηρότητα**. Οι 32 (31%) είχαν αρτηριακή υπέρταση, 22 (22%) δυσλιπιδαιμία, 11 (11%) σακχαρώδη διαβήτη, 8 (8%) αυτοάνοσο νόσημα, 3 (3%) άσθμα ή χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, 5 (5%) ανοσοανεπάρκεια, 13 (13%) αγγειακή νόσο (στεφανιαία νόσο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο), 21 (21%) άνοια ή καταθλιπτική συνδρομή ή ψύχωση.

Όσον αφορά την εμφάνιση **ανεπιθύμητων ενεργειών** μετά την πρώτη δόση του εμβολίου, 24 στους 102 (24%) είχαν τουλάχιστον μία παρενέργεια, 4 (4%) έκαναν πυρετό, 19 (19%) είχαν πόνο στο χέρι, 5 (5%) είχαν μυαλγίες ή αρθραλγίες, 2 (2%) είχαν κόπωση, 4 (4%) είχαν κεφαλαλγία, 1 (1%) είχε γριπώδη συνδρομή, 4 (4%) είχαν άλλα συμπτώματα. Μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου που πραγματοποιήθηκε από 101 συμμετέχοντες, διότι ένας εμφάνισε αναφυλακτική αντίδραση μετά την πρώτη δόση, 33 (32%) είχαν τουλάχιστον μία παρενέργεια, 7 (7%) έκαναν πυρετό, 12 (12%) είχαν πόνο στο χέρι, 11(11%) είχαν μυαλγίες ή αρθραλγίες, 15 (15%) είχαν κόπωση, 4 (4%) είχαν κεφαλαλγία, 2 (2%) είχαν γριπώδη συνδρομή, 7 (7%) είχαν άλλα συμπτώματα. Από τους συμμετέχοντες με προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2 (είτε θετική PCR, είτε θετικά anti-N), μόνο 1 (1%) είχε παρενέργεια (πόνο στο χέρι) και μόνο μετά την πρώτη δόση. Το άτομο με την αναφυλακτική αντίδραση στην πρώτη δόση του εμβολίου ανέπτυξε αντισωματική απάντηση που τη διατήρησε έως και την αιμοληψία στους 3 μήνες.

Για τη συσχέτιση των παραγόμενων αντισωμάτων σε σχέση με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων έγινε πολυπαραγοντική και στη συνέχεια συγκριτική μονοπαραγοντική ανάλυση για τα εξής: ηλικία (3 ηλικιακές ομάδες), φύλο, συννοσηρότητες (αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, αυτοάνοσο νόσημα, άσθμα ή χρόνια αποφρακτική

πνευμονοπάθεια, ανοσοανεπάρκεια/ανοσοκαταστολή, αγγειακή νόσος, άνοια/ψυχωσική συνδρομή/κατάθλιψη), θετική PCR προ του εμβολιασμού, ανεπιθύμητες ενέργειες (πυρετός, πόνος στο χέρι, μυαλγίες/αρθραλγίες, κόπωση, κεφαλαλγία, γριπώδη συνδρομή, άλλα).

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι μόνο η ηλικία συσχετίζεται (OD: 1,057, $p=0,005$) με την ανάπτυξη ή όχι αντισωμάτων έναντι της RBD της πρωτεΐνης της ακίδας στις 21 και στις 42 ημέρες. Όσο αυξάνεται η ηλικία, μειώνεται το ποσοστό αντισωματικής απάντησης. Για την ηλικιακή ομάδα Β (50-69 ετών) η αρτηριακή υπέρταση ($p<0,019$) και η αγγειακή νόσος ($p<0,010$) συσχετίζονται αρνητικά με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά τον πρώτο εμβολιασμό, ενώ η αγγειακή νόσος ($p=0,004$) και τα αυτοάνοσα νοσήματα ($p<0,001$) συσχετίζονται αρνητικά με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά την ολοκλήρωση και της δεύτερης δόσης. Για την ηλικιακή ομάδα Γ (>70 ετών) η ύπαρξη τουλάχιστον μίας συννοσηρότητας ($p=0,035$) φαίνεται να συσχετίζεται αρνητικά με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά τις δύο δόσεις του εμβολίου. [ΠΙΝΑΚΑΣ 2], [ΠΙΝΑΚΑΣ 3]

Συνολικά, 4(4%) συμμετέχοντες δεν ανέπτυξαν ποτέ αντισωματική απάντηση εκ των οποίων 1 (1%) ανήκε στην ηλικιακή ομάδα Β, ήταν άνδρας και είχε 3 συννοσηρότητες (αυτοάνοσο νόσημα, αρτηριακή υπέρταση, αγγειακή νόσο) και 3(3%) ανήκαν στην ηλικιακή ομάδα Γ, συγκεκριμένα ήταν άνω των 80 ετών, όλες γυναίκες, η μία δεν είχε συννοσηρότητες, η δεύτερη είχε αρτηριακή υπέρταση και η τρίτη είχε 3 συννοσηρότητες (αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και αγγειακή νόσο). Κανένας δεν είχε μόλυνση από SARS-CoV-2 πριν τον εμβολιασμό. Κανένας δεν ανέπτυξε ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τους δύο εμβολιασμούς. Οι συμμετέχοντες που ανέπτυξαν αντισωματική απάντηση είτε από την πρώτη, είτε στη δεύτερη δόση του εμβολίου 98(96%), τη διατήρησαν μέχρι και τους 3 μήνες.

Επίσης, 2 (2%) συμμετέχοντες βρέθηκαν να έχουν θετική PCR για SARS-CoV-2, μετά και τη δεύτερη δόση του εμβολίου, και ήπια συμπτωματολογία COVID-19-γριπώδη συνδρομή, χωρίς ανάγκη για νοσηλεία. Και οι δύο είχαν θετικά anti-RBD CMIA από τις 21 ημέρες, ενώ μόνο ένας από τους δύο ανέπτυξε anti-N CMIA στην αιμοληψία στους 3 μήνες.

Σύγκριση μεθόδων

Με τη μέθοδο της ELISA το όριο των θετικών IgG αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S ήταν $\geq 1,1\text{BI}$, ο μέσος όρος των IgG anti-S ήταν 3,4 ($\pm 3,4$) στις 21 ημέρες και 7,9 ($\pm 3,2$) στις 42 ημέρες. Το όριο των θετικών IgA αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S ELISA ήταν $>14\text{U/mL}$, ο μέσος όρος των IgA anti-S ήταν 11,2 ($\pm 11,8$) και 21,0 ($\pm 11,3$) στις 42 ημέρες. Με τη μέθοδο της

χημειοφωταύγειας (CMIA) το όριο των θετικών IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2 είναι $>50,0$ AU/mL, ο μέσος όρος των IgG anti-RBD ήταν $3.062 (\pm 8.212)$ στις 21 ημέρες, $11.379 (\pm 11.459)$ στις 42 ημέρες και $4.729 (\pm 7.250)$ στους 3 μήνες. Το όριο των θετικών N αντισωμάτων anti-N είναι $S/C \geq 1.4$, ο μέσος όρος των θετικών anti-N ήταν $4,3 (\pm 1,8)$ στις 21 ημέρες, $4,1 (\pm 1,7)$ στις 42 ημέρες και $3,0 (\pm 1,5)$ στους 3 μήνες. [ΠΙΝΑΚΑΣ 4]

Με τη μέθοδο CMIA, φαίνεται να υπάρχει σχεδόν 120 φορές (11.754%) αύξηση των IgG anti-RBD από τις 21 ημέρες στις 42 ημέρες. Ενώ, παρατηρήθηκε σχεδόν 3 φορές (-60%) μείωση των IgG anti-RBD από τις 42 ημέρες στους 3 μήνες. Φαίνεται σαφής ανοδική πορεία των αντισωμάτων μέχρι τις 42 ημέρες που ακολουθείται από φθίνουσα πορεία ως τους 3 μήνες. Ωστόσο, ως το 3μηνο δεν παρατηρείται αρνητικοποίηση των αντισωμάτων σε κανένα από τους συμμετέχοντες. Επίσης, τα anti-N CMIA στους θετικούς ασθενείς φαίνεται να εμφανίζουν μικρή πτώση από τις 21 ημέρες στις 42 ημέρες, 1 φορά (-6%) και περαιτέρω πτώση από τις 42 ημέρες στους 3 μήνες, 1,5 φορά (-28%). [ΠΙΝΑΚΑΣ 5], [ΕΙΚΟΝΑ 5], [ΕΙΚΟΝΑ 6]

Στη σύγκριση των δύο μεθόδων που μετρούν IgG αντισώματα (ELISA anti-S και CMIA anti-RBD) φαίνεται να υπάρχει χαμηλή θετική συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, μεταξύ των δύο μεθόδων στις 21 ημέρες $r=0,306$ ($p<0,002$) και μέτρια θετική συσχέτιση, στατιστικά σημαντική $r=0,570$ ($p<0,001$) για τις 42 ημέρες.

Σύγκριση συμμετεχόντων με ή χωρίς μόλυνση από SARS-CoV-2

Τα αντισώματα IgG anti-RBD CMIA των ατόμων με προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2 ήταν κατά μέσο όρο $22.966 (\pm 14.809)$ στις 21 ημέρες, $31.654 (\pm 11.770)$ στις 42 ημέρες και $20.114 (\pm 12.512)$ στους 3 μήνες. Στα άτομα χωρίς προηγούμενη μόλυνση, τα αντισώματα IgG anti-RBD CMIA ήταν κατά μέσο όρο $900 (\pm 599)$ στις 21 ημέρες, $9.231 (\pm 5.226)$ στις 42 ημέρες και $3.069 (\pm 1.585)$ στους 3 μήνες. Τα αντισώματα IgG anti-RBD CMIA των συμμετεχόντων με μόλυνση SARS-CoV-2 ήταν 25,6 φορές (96%) περισσότερα σε σύγκριση με αυτούς που δεν έχουν μολυνθεί ποτέ στις 21 ημέρες, περίπου 3,4 φορές (71%) περισσότερα στις 42 ημέρες και 6,6 φορές (85%) περισσότερα στους 3 μήνες. Φαίνεται ότι τα άτομα με μόλυνση από SARS-CoV-2 στο παρελθόν, εμφανίζουν σημαντικά γρηγορότερη αύξηση των αντισωμάτων στις 21 ημέρες και συνεχίζουν να έχουν υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων και στις 42 ημέρες και στους 3 μήνες, σε σχέση με τα άτομα που δεν έχουν προηγούμενη έκθεση στον ιό. [ΠΙΝΑΚΑΣ 6], [ΕΙΚΟΝΑ 7]

*ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ COVID-19
MRNA BNT162B2 ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ SARS-COV-2 ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.*

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Αριθμός συμμετεχόντων που ανέπτυξε IgG αντισώματα έναντι της RBD της S1 υποομάδας της ακίδας, με τη μέθοδο CMIA, σε κάθε αιμοληψία (21 ημέρες, 42 ημέρες και 3 μήνες), σύμφωνα με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τις συννοσηρότητες, θετική PCR προ εμβολιασμού και ανεπιθύμητες ενέργειες μετά την πρώτη και δεύτερη δόση του εμβολίου.

IgG anti-RBD CMIA	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	90 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	n (%*)	n (%*)	n (%*)	n (%)
18-49 (ΟΜΑΔΑ Α)	33/34 (97%)	34/34 (100%)	34/34 (100%)	34/102 (33%)
50-69 (ΟΜΑΔΑ Β)	30/34 (88%)	33/34 (97%)	33/34 (97%)	34/102 (33%)
>70 (ΟΜΑΔΑ Γ)	20/34 (59%)	31/34 (91%)	31/34 (91%)	34/102 (33%)
ΦΥΛΟ				
ΑΡΡΕΝ	28/36 (78%)	35/36 (97%)	35/36 (97%)	36/102 (35%)
ΘΗΛΥ	55/66 (83%)	63/66 (95%)	63/66 (95%)	66/102 (65%)
ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ				
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	20/32 (63%)	30/32 (94%)	30/32 (94%)	32/102 (31%)
ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	13/22 (59%)	20/22 (91%)	20/22 (91%)	22/102 (22%)
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	7/11 (64%)	11/11 (100%)	11/11 (100%)	11/102 (11%)
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	7/8 (88%)	7/8 (88%)	7/8 (88%)	8/102 (8%)
ΑΣΘΜΑ/ΧΑΠ	2/3 (67%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/102 (3%)
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΙΡΚΕΙΑ/ΑΝ ΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ	5/5 (100%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	5/102 (5%)
ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	8/13 (62%)	11/13 (85%)	11/13 (85%)	13/102 (13%)
ΑΝΟΙΑ/ΨΥΧΩΣΙΚΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ/ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	15/21 (71%)	21/21 (100%)	21/21 (100%)	21/102 (21%)
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 1	51/68 (75%)	65/68 (96%)	65/68 (96%)	68/102 (67%)
PCR ΘΕΤΙΚΗ				
ΠΡΙΝ	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (10%)	10/102 (10%)
ΜΕΤΑ	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/10 (2%)	2/102 (2%)
ΠΟΤΕ	71/90 (79%)	86/90 (96%)	86/90 (96%)	90/102 (88%)
ΣΥΝΟΛΟ	83/102 (81%)	98/102 (96%)	98/102 (96%)	
ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 21 ΗΜΕΡΕΣ**	ΣΥΝΟΛΟ 42 ΗΜΕΡΕΣ**		
ΠΥΡΕΤΟΣ	4/102 (4%)	7/102 (7%)		
ΠΟΝΟΣ ΣΤΟ ΧΕΡΙ	19/102 (19%)	12/102 (12%)		
ΜΥΑΛΓΙΕΣ ΑΡΘΡΑΛΓΙΕΣ	5/102 (5%)	11/102 (11%)		
ΚΟΠΩΣΗ	2/102 (2%)	15/102 (15%)		
ΚΕΦΑΛΑΓΓΙΑ	4/102 (4%)	4/102 (4%)		
ΓΡΙΠΩΔΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ	1/102 (1%)	2/102 (2%)		
ΑΛΛΑ	4/102 (4%)	7/102 (7%)		
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 1 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ	25/102 (25%)	33/102 (32%)		

*Ποσοστό % επί του συνόλου της υποομάδας. **Από τους συμμετέχοντες με προηγούμενη μόλυνση SARS-CoV-2 ένας είχε ανεπιθύμητη ενέργεια μόνο στον πρώτο εμβολιασμό (πόνος στο χέρι).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 Συσχέτιση (στατιστική σημαντικότητα *p* και λόγος σχετικών πιθανοτήτων *OD*) των δημογραφικών χαρακτηριστικών και των ανεπιθύμητων ενεργειών με την ανάπτυξη αντισωμάτων.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΩΝ ΕΝΕΡΓΕΙΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	OD	p value
ΗΛΙΚΙΑ	1,057	0,005
ΦΥΛΟ	1,817	0,496
PCR ΘΕΤΙΚΗ	1,000	0,999
ΠΥΡΕΤΟΣ	1,579	1,000
ΠΟΝΟΣ ΣΤΟ ΧΕΡΙ	0,000	0,998
ΜΥΑΛΓΙΕΣ ΑΡΘΡΑΛΓΙΕΣ	0,000	1,000
ΚΟΠΩΣΗ	0,000	0,999
ΚΕΦΑΛΑΓΓΙΑ	0,000	0,999
ΓΡΙΠΩΔΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ	0,000	0,999
ΑΛΛΕΣ ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ	0,000	0,999

ΠΙΝΑΚΑΣ 3 Συσχέτιση (στατιστική σημαντικότητα *p value*) των συννοσηροτήτων με την ανάπτυξη αντισωμάτων στις ηλικιακές ομάδες 50-59 ετών και >70 ετών.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ <i>p</i>)	ΗΛΙΚΙΑ 50-69 ΕΤΩΝ		ΗΛΙΚΙΑ >70 ΕΤΩΝ	
	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ
ΑΡΘΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	0,019	0,096	0,736	0,194
ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	0,823	0,618	0,212	0,425
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	0,237	0,761	0,641	0,416
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	0,237	0,001	0,411	0,761
ΑΣΘΜΑ/ΧΑΠ	0,721	0,865	0,801	0,662
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ/ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ	0,608	0,807	0,411	0,761
ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	0,010	0,004	0,591	0,786
ΑΝΟΙΑ/ΨΥΧΩΣΙΚΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ/ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	0,330	0,645	0,905	0,114
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	0,339	0,651	0,801	0,035

*ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ COVID-19
MRNA BNT162B2 ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ SARS-COV-2 ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.*

ΠΙΝΑΚΑΣ 4 Μέσος όρος (ΜΟ) και τυπική απόκλιση (SD) των αντισωμάτων ανά μέθοδο και χρονική περίοδο.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ SARS-CoV-2 (ΜΟ±SD)	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	90 ΗΜΕΡΕΣ
IgA anti-S ELISA (θετικό >14 U/mL, αμφίβολο: 10-14 U/mL)	11,2 (±11,8)	20,9 (±11,3)	
IgG anti-S ELISA (θετικό: BI ≥1,1, BI: 0,9-1,1 αμφίβολο)	3,4 (±3,4)	7,9 (±3,2)	
IgG anti-RBD CMIA (θετικό ≥50,0AU/mL)	3.062 (±8.212)	11.379 (±11.459)	4.729 (±7.250)
anti-N CMIA (θετικό: S/C ≥1.4)	4,3 (±1,8)	4,1 (±1,7)	3 (±1,5)

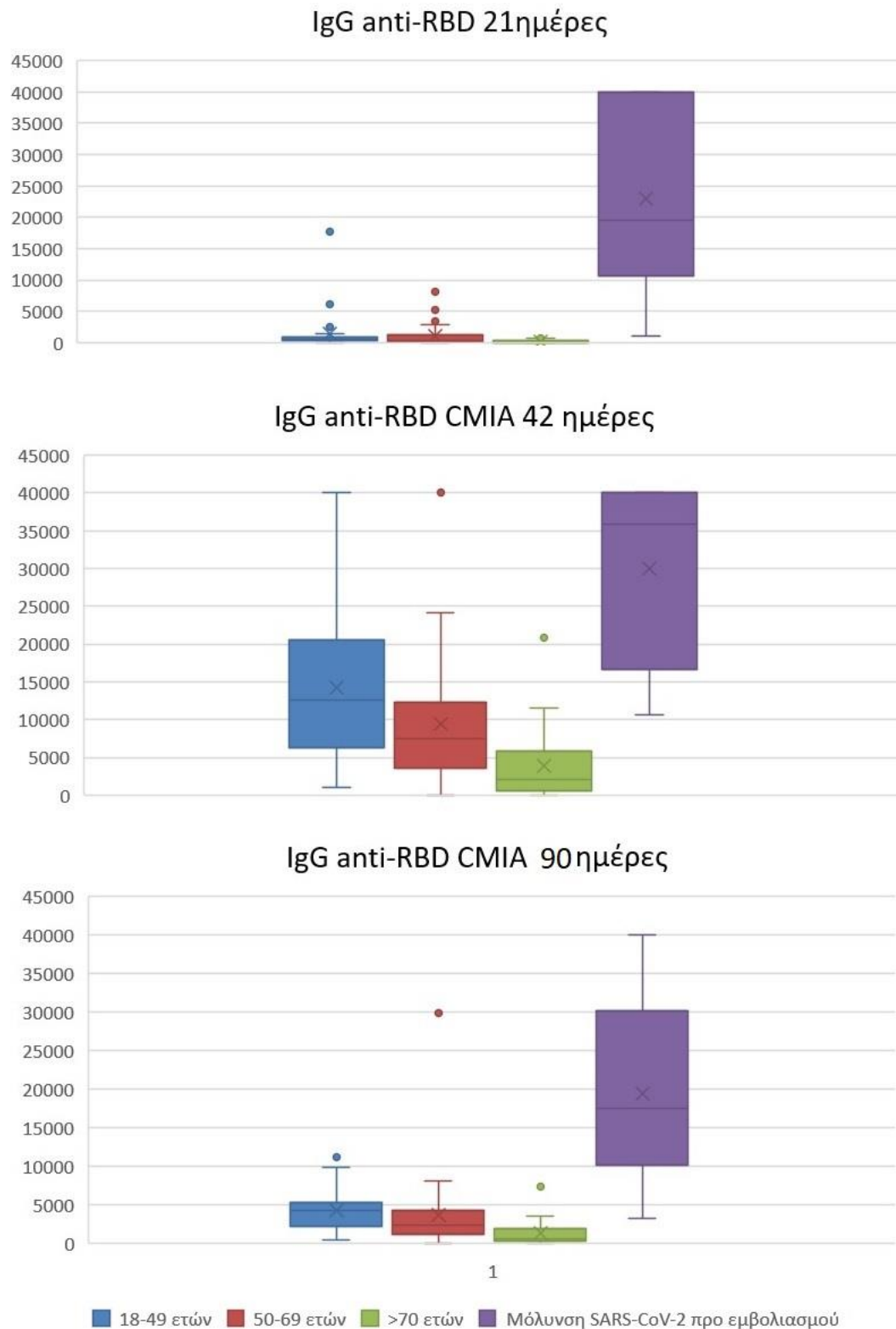
ΠΙΝΑΚΑΣ 5 Μεταβολή και ποσοστιαία αύξηση ή μείωση του μέσου όρου των αντισωμάτων (IgG anti-RBD και anti-N) με CMIA από τις 21 στις 42 ημέρες και από τις 42 ημέρες στις 90 ημέρες.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ SARS-CoV-2	21 - 42 ΗΜΕΡΕΣ	42 - 90 ΗΜΕΡΕΣ
IgG anti-RBD CMIA	116,4 (11540%)	-3,14 (-61%)
anti-N CMIA	-1,06 (-6%)	-1,49 (-28%)

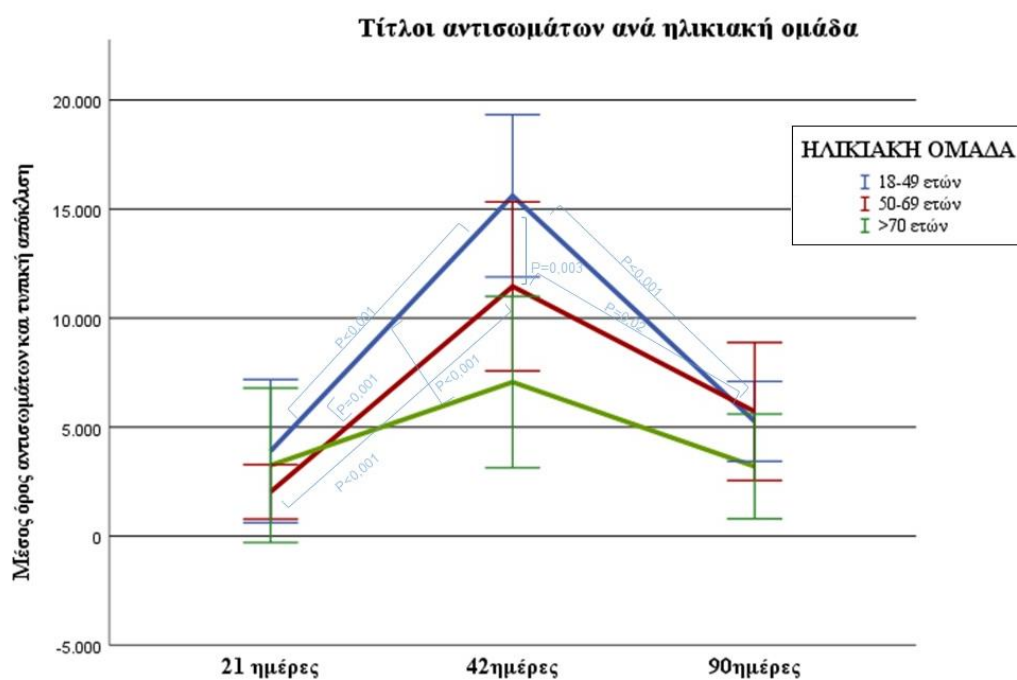
ΠΙΝΑΚΑΣ 6 Μέσος όρος (ΜΟ) και τυπική απόκλιση (SD) των αντισωμάτων IgG anti-RBD CMIA στα άτομα με ή χωρίς μόλυνση από SARS-CoV-2 και η αναλογία αντισωμάτων μεταξύ τους.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ SARS-CoV-2 IgG anti-RBD CMIA (ΜΟ±SD)	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	90 ΗΜΕΡΕΣ
18-49 (ΟΜΑΔΑ Α)	1.366 (±3.283)	14.320 (±9.933)	4.276 (±2.658)
50-69 (ΟΜΑΔΑ Β)	1.109 (±1.788)	9.491 (±8.776)	3.657 (±5.308)
>70 (ΟΜΑΔΑ Γ)	224 (±353)	3.881 (±4.550)	1.275 (±1.535)
ΜΗ ΜΟΛΥΝΘΕΝΤΕΣ - ΣΥΝΟΛΟ	900 (±599)	9231 (±5225)	3.069 (±1585)
ΜΟΛΥΝΘΕΝΤΕΣ ΠΡΟ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ	22.996 (±14.809)	31.654 (±11.770)	20.115 (±12.512)
ΜΟΛΥΝΘΕΝΤΕΣ/ ΜΗ ΜΟΛΥΝΘΕΝΤΕΣ	25,6 (96%) *	3,4 (71%) *	6,6 (85%) *

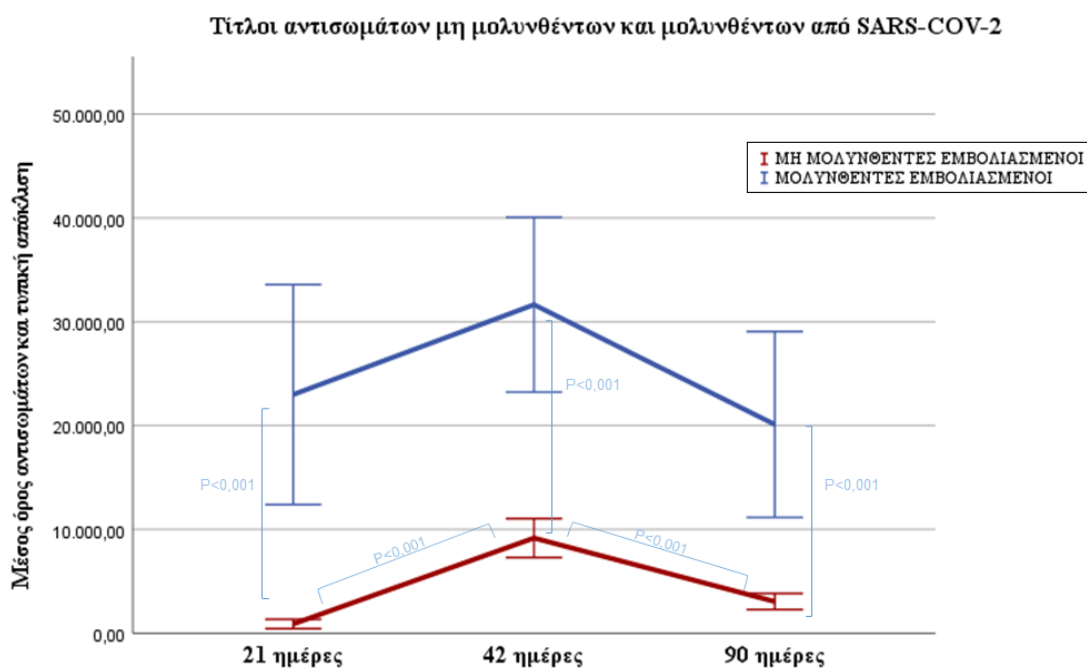
*Αναλογία και ποσοστιαία διαφορά των αντισωμάτων μεταξύ των μολυνθέντων εμβολιασμένων από τους μη μολυνθέντες.



ΕΙΚΟΝΑ 5 Τίτλοι IgG anti-RBD στις 21ημέρες, 42 ημέρες και 90 ημέρες στις ηλικιακές ομάδες χωριστά και στα άτομα με μόλυνση από τον ιό SARS-CoV-2 προ εμβολιασμού



***EIKONA 6** Τίτλοι αντισωμάτων ανά ηλικιακή ομάδα*



***EIKONA 7** Τίτλοι αντισωμάτων μολυνθέντων και μη μολυνθέντων από SARS-CoV-2*

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης για την αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης μετά τον εμβολιασμό με δύο δόσεις του εμβολίου SARS-CoV-2 (Pfizer) σε 102 ενήλικες συμμετέχοντες, ανεδείχθη ανάπτυξη αντισωματικής απάντησης (IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της πρωτεΐνης της ακίδας με τη μέθοδο χημειοφωταύγειας) σε ποσοστό 83% μετά την πρώτη δόση του εμβολίου και 98% μετά τη δεύτερη δόση. Ενώ, φάνηκε ότι ο τίτλος των αντισωμάτων αυξήθηκε εκθετικά (120 φορές) μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου (αιμοληψία στις 42 ημέρες). Στο διάστημα της μελέτης, δύο συμμετέχοντες (2%), 2 μήνες περίπου μετά τον εμβολιασμό, είχαν θετική PCR και ανέπτυξαν ήπια συμπτώματα COVID-19, χωρίς να χρειαστούν νοσηλεία. Τα ευρήματα αυτά συμβαδίζουν με τα αποτελέσματα άλλων μελετών σχετικά με την αποτελεσματικότητα του εμβολίου. [9], [10], [12] Αν και οι τίτλοι των παραγόμενων αντισωμάτων υποτριπλασιάστηκαν στους 3 μήνες μετά τον εμβολιασμό, όλοι οι συμμετέχοντες που ανέπτυξαν αντισωματική απάντηση, τη διατήρησαν ως αυτή τη χρονική περίοδο.

Όσον αφορά τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, το φύλο, οι ανεπιθύμητες ενέργειες και η προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2 δε συσχετίστηκαν με την ανάπτυξη ή μη αντισωματικής απάντησης. Από τις συννοσηρότητες των συμμετεχόντων (αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, αυτοάνοσα νοσήματα, άσθμα και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, ανοσοανεπάρκεια και ανοσοκαταστολή, αγγειακή νόσος και νοσήματα της ψυχικής σφαίρας), στην ηλικιακή ομάδα 50 έως 69 ετών, η αρτηριακή υπέρταση ($p < 0,019$) και η αγγειακή νόσος ($p < 0,010$) φαίνεται να έχουν σημαντική αρνητική συσχέτιση για την αρχική αντισωματική απάντηση (μετά τον πρώτο εμβολιασμό), ενώ η αγγειακή νόσος ($p = 0,004$) και τα αυτοάνοσα νοσήματα ($p < 0,001$) φαίνεται να έχουν σημαντική αρνητική συσχέτιση για την οριστική αντισωματική απάντηση (μετά την ολοκλήρωση του εμβολιασμού). Στην ηλικιακή ομάδα 70ετών και άνω, η ύπαρξη τουλάχιστον μίας από τις αναφερόμενες συννοσηρότητες συσχετίζεται αρνητικά ($p = 0,035$) με την παραγωγή αντισωμάτων μετά την ολοκλήρωση των εμβολίων. Στην ηλικιακή ομάδα 18 έως 49 ετών κανένας παράγοντας δε φαίνεται να επηρεάζει την τελική αντισωματική απάντηση. Από αποτελέσματα άλλων μελετών φαίνεται ότι η ύπαρξη υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, το κάπνισμα και ο δείκτης μάζας σώματος σχετίζονται την ανάπτυξη χαμηλότερου τίτλου αντισωμάτων. [11] Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη δεν συλλέχθηκαν δεδομένα για την καπνιστική συνήθεια και το δείκτη μάζας σώματος των συμμετεχόντων.

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι μόνο η ηλικία συσχετίζεται με την ανάπτυξη ή όχι αντισωμάτων έναντι της RBD της πρωτεΐνης της ακίδας στις 21 και στις 42 ημέρες. Όσο

αυξάνεται η ηλικία, μειώνεται το ποσοστό αντισωματικής απάντησης. Για την ηλικιακή ομάδα Β (50-69 ετών) η αρτηριακή υπέρταση και η αγγειακή νόσος συσχετίζονται με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά τον πρώτο εμβολιασμό, ενώ συσχετίζονται με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά την ολοκλήρωση και της δεύτερης δόσης. Για την ηλικιακή ομάδα Γ (>70 ετών) η ύπαρξη τουλάχιστον μίας συννοσηρότητας φαίνεται να συσχετίζεται με την ανάπτυξη αντισωμάτων μετά τις δύο δόσεις του εμβολίου.

Η ηλικία, φαίνεται να είναι καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη αντισωματικής απάντησης (OD: 1,057, $p=0,005$), δεδομένα που επιβεβαιώνονται και από άλλες μελέτες. Με την αύξηση της ηλικίας, μειώνεται η αντισωματική απάντηση. Οι συμμετέχοντες από 18 έως 49 ετών (ομάδα Α) είχαν αναπτύξει αντισώματα σε ποσοστό 97% από την πρώτη δόση του εμβολίου, τα άτομα ηλικίας 50 έως 69 ετών (ομάδα Β) είχαν αναπτύξει αντισώματα σε ποσοστό 88%, ενώ τα άτομα ηλικίας άνω των 70 (ομάδα Γ) ετών ανέπτυξαν σε ποσοστό 59%. Τα ποσοστά αυτά βελτιώθηκαν σημαντικά μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου, όπου στην ομάδα Α 100% ανέπτυξαν αντισώματα, στην ομάδα Β 97% και στην ομάδα Γ 91%. Στους 3 μήνες, όπως ήδη ειπώθηκε, όλοι οι συμμετέχοντες διατήρησαν αντισωματική απάντηση, αλλά οι τίτλοι των αντισωμάτων έπεσαν αναλογικά με την ηλικιακή ομάδα.

Καμία από τις ανεπιθύμητες ενέργειες των συμμετεχόντων δε συσχετίστηκε με παραγωγή αντισωμάτων ούτε μετά την πρώτη, ούτε μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου. Σύμφωνα με άλλες βιβλιογραφικές μελέτες τα άτομα με προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2 έχουν περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες από αυτούς που δεν έχουν έρθει ποτέ σε επαφή με τον ιό. [7], [8], [13] Οι παρενέργειες μετά την πρώτη δόση των ατόμων με προηγούμενη μόλυνση είναι όμοιες με αυτές των ατόμων χωρίς μόλυνση στη δεύτερη δόση του εμβολίου. Ωστόσο, σε αυτή τη μελέτη τα προαναφερθέντα ευρήματα δεν επαληθεύτηκαν.

Στους συμμετέχοντες με προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2, τα αντισώματα IgG anti-RBD CMIA, ήταν 25,6 φορές περισσότερα σε σύγκριση με αυτούς χωρίς προηγούμενη μόλυνση, στις 21 ημέρες, 3,4 φορές περισσότερα στις 42 ημέρες και 6,6 φορές περισσότερα στους 3 μήνες. Έτσι, φαίνεται ότι τα άτομα με προηγούμενη μόλυνση από τον ιό εμφανίζουν επαρκή και ισχυρή χυμική ανοσιακή απάντηση από την πρώτη δόση του εμβολίου, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι είτε μπορεί να παραληφθεί η δεύτερη δόση του εμβολίου σε αυτά τα άτομα είτε να καθυστερήσει ώστε να προτεραιοποιηθούν άλλα άτομα, κατά τη διάρκεια της πανδημίας. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνονται από πολλές πρόσφατες μελέτες και ήδη σε πολλές χώρες συνιστάται μία δόση του εμβολίου σε άτομα που νόσησαν από COVID-19 τους τελευταίους 9 μήνες. [13], [16] Δεν

είναι σαφές όμως, αν η δεύτερη δόση θα πρέπει να παραληφθεί και από τα άτομα που μολύνθηκαν, αλλά δεν ανέπτυξαν συμπτώματα.

Διάφοροι περιορισμοί της μελέτης χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Η συγκεκριμένη μελέτη, δεν έχει ολοκληρωθεί ακόμα αφού αναμένεται να ληφθούν δείγματα από τους συμμετέχοντες στους 6 μήνες από τον πρώτο εμβολιασμό, ενώ σε αυτούς που θα συνεχίζουν να έχουν χυμική απάντηση έχει προγραμματιστεί λήψη στους 9 και στους 12 μήνες. Τα αποτελέσματα των επόμενων αιμοληψιών αναμένεται να έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον σχετικά με τη διατήρηση της αντισωματικής απάντησης και την ανάγκη εκ νέου εμβολιασμού στο ενδεχόμενο μείωσης ή αρνητικοποίησης του τίτλου του τίτλου των αντισωμάτων. Οι συμμετέχοντες, επίσης αναμένεται να ερωτηθούν στην πορεία για το ενδεχόμενο μόλυνσης από SARS-CoV-2 σε μεταγενέστερη περίοδο.

Η εξουδετερωτική ικανότητα των αντισωμάτων, η επαγωγή της κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό, η ανοσολογική απάντηση άλλων εμβολίων (εμβόλια ιικών φορέων και το εμβόλιο mRNA-1273) και το γενετικό προφίλ των συμμετεχόντων που δεν ανέπτυξαν αντισώματα, είναι ερωτήματα που αναμένεται να διερευνηθούν στη μελέτη «Μελέτη επαγωγής και κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό COVID-19», μέρος της οποίας είναι η τρέχουσα μελέτη.

Άλλα ερευνητικά ερωτήματα που δεν απαντήθηκαν από αυτή τη μελέτη είναι ο απαιτούμενος τίτλος αντισωμάτων για τη διασφάλιση ανοσίας έναντι του SARS-CoV-2. Ο λόγος εκδήλωσης συμπτωμάτων COVID-19, μετά από εμβολιασμό και μόλυνση από τον ιό, αν σχετίζεται με τον τίτλο των παραγόμενων αντισωμάτων, το είδος της ανοσιακής απάντησης ή πιθανώς άλλους παράγοντες όπως οι μεταλλάξεις του ιού ή το γενετικό προφίλ των νοσούντων.

Βασικός περιορισμός της μελέτης είναι ο αριθμός των συμμετεχόντων, καθώς και η επιλογή τους, αφού έγινε μεν τυχαία άλλα με κριτήριο τον ίσο διαχωρισμό στις ηλικιακές ομάδες και την συμπλήρωση των ερωτηματολογίων, του εντύπου συγκατάθεσης αλλά και την ολοκλήρωση όλων των αιμοληψιών ως την ημέρα συγγραφή της μελέτης. Επιπροσθέτως, στη μελέτη θα μπορούσαν να συμπεριληφθούν και άλλα δημογραφικά χαρακτηριστικά όπως ο δείκτης μάζας σώματος και η καπνιστική συνήθεια και να γίνει πιο εκτενής καταγραφή των συννοσηροτήτων. Τέλος, λόγω έλλειψης αντιδραστηρίων την τρέχουσα περίοδο, δεν έγινε μέτρηση των αντισωμάτων anti-S IgA και IgG με τη μέθοδο ELISA στους 3 μήνες από τον εμβολιασμό.

Όπως και σε πολλές άλλες ιστορικές στιγμές της ανθρωπότητας έτσι και στην πανδημία από τον ιό SARS-CoV-2, τα εμβόλια φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο για την προαγωγή της υγείας,

τον έλεγχο της πανδημίας, τη διασφάλιση ανοσίας του πληθυσμού και κατ' επέκταση την ανοσία της αγέλης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Prendecki M, Clarke C, Brown J, Cox A, Gleeson S, Guckian M, et al. Effect of previous SARS-CoV-2 infection on humoral and T-cell responses to single-dose BNT162b2 vaccine. *The Lancet*. Elsevier BV; 2021;397(10280):1178–81. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00502-x
- [2] Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell*. Elsevier BV; 2021;184(1):169-183.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2020.11.029
- [3] Saadat S, Rikhtegaran Tehrani Z, Logue J, Newman M, Frieman MB, Harris AD, et al. Binding and Neutralization Antibody Titers After a Single Vaccine Dose in Health Care Workers Previously Infected with SARS-CoV-2. *JAMA*. American Medical Association (AMA); 2021;325(14):1467. DOI: 10.1001/jama.2021.3341
- [4] Chia WN, Zhu F, Ong SWX, Young BE, Fong S-W, Le Bert N, et al. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *The Lancet Microbe*. Elsevier BV; 2021;2(6): e240–9. DOI: 10.1016/s2666-5247(21)00025-2
- [5] Hasan A, Al-Ozairi E, Al-Baqsumi Z, Ahmad R, Al-Mulla F. Cellular and Humoral Immune Responses in Covid-19 and Immunotherapeutic Approaches. *ITT*. Informa UK Limited; 2021; Volume 10:63–85. DOI: 10.2147/itt. s280706
- [6] Smadja DM, Yue Q-Y, Chocron R, Sanchez O, Lillo-Le Louet A. Vaccination against COVID-19: insight from arterial and venous thrombosis occurrence using data from VigiBase. *Eur Respir J*. European Respiratory Society (ERS); 2021;2100956. DOI: 10.1183/13993003.00956-2021
- [7] Manisty C, Otter AD, Treibel TA, McKnight Á, Altmann DM, Brooks T, et al. Antibody response to first BNT162b2 dose in previously SARS-CoV-2-infected individuals. *The Lancet*. Elsevier BV; 2021;397(10279):1057–8. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00501-8
- [8] Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, et al. Antibody Responses in Seropositive Persons after a Single Dose of SARS-CoV-2 mRNA Vaccine. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 2021;384(14):1372–4. DOI: 10.1056/nejmc2101667
- [9] Bradley T, Grundberg E, Selvarangan R, LeMaster C, Fraley E, Banerjee D, et al. Antibody Responses after a Single Dose of SARS-CoV-2 mRNA Vaccine. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 2021;384(20):1959–61. DOI: 10.1056/nejmc2102051

- [10] Blain H, Tuaillon E, Gamon L, Pisoni A, Miot S, Picot M-C, et al. Spike Antibody Levels of Nursing Home Residents with or Without Prior COVID-19 3 Weeks After a Single BNT162b2 Vaccine Dose. *JAMA. American Medical Association (AMA)*; 2021;325(18):1898. DOI: 10.1001/jama.2021.6042
- [11] Watanabe M, Balena A, Tuccinardi D, Tozzi R, Risi R, Masi D, et al. Central obesity, smoking habit, and hypertension are associated with lower antibody titers in response to COVID-19 mRNA vaccine. *Diabetes Metab Res Rev. Wiley*; 2021; DOI: 10.1002/dmrr.3465
- [12] Favresse J, Bayart J-L, Mullier F, Dogné J-M, Closset M, Douxflis J. Early antibody response in health-care professionals after two doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine (BNT162b2). *Clinical Microbiology and Infection. Elsevier BV*; 2021; DOI: 10.1016/j.cmi.2021.05.004
- [13] Ebinger JE, Fert-Bober J, Printsev I, Wu M, Sun N, Figueiredo JC, et al. Prior COVID-19 Infection and Antibody Response to Single Versus Double Dose mRNA SARS-CoV-2 Vaccination. *Cold Spring Harbor Laboratory*; 2021.
- [14] Lacson E Jr, Argyropoulos CP, Manley HJ, Awah G, Chin AI, Salman LH, et al. Immunogenicity of SARS-CoV-2 Vaccine in Dialysis. *Cold Spring Harbor Laboratory*; 2021.
- [15] Huang Q, Ji K, Tian S, Wang F, Huang B, Tong Z, et al. A single-dose mRNA vaccine provides a long-term protection for hACE2 transgenic mice from SARS-CoV-2. *Nat Commun. Springer Science and Business Media LLC*; 2021;12(1). DOI: 10.1038/s41467-021-21037-2
- [16] Callegaro A, Borleri D, Farina C, Napolitano G, Valenti D, Rizzi M, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 vaccination is extremely vivacious in subjects with previous SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol. Wiley*; 2021;93(7):4612–5. DOI: 10.1002/jmv.26982
- [17] Collier DA, De Marco A, Ferreira IATM, Meng B, Datir RP, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature. Springer Science and Business Media LLC*; 2021;593(7857):136–41. DOI: 10.1038/s41586-021-03412-7
- [18] Cavalcanti E, Isgrò MA, Rea D, Di Capua L, Trillò G, Russo L, et al. Vaccination strategy and anti - SARS-CoV-2 S titers in healthcare workers of the INT – IRCCS “Fondazione Pascale” Cancer Center (Naples, Italy). *Infect Agents Cancer. Springer Science and Business Media LLC*; 2021;16(1). DOI: 10.1186/s13027-021-00375-2
- [19] Goel RR, Apostolidis SA, Painter MM, Mathew D, Pattekar A, Kuthuru O, et al. Distinct antibody and memory B cell responses in SARS-CoV-2 naïve and recovered individuals following mRNA vaccination. *Sci Immunol. American Association for the Advancement of Science (AAAS)*; 2021;6(58): eabi6950. DOI: 10.1126/sciimmunol. abi6950

- [20] Collier AY, McMahan K, Yu J, Tostanoski LH, Aguayo R, Ansel J, et al. Immunogenicity of COVID-19 mRNA Vaccines in Pregnant and Lactating Women. JAMA. American Medical Association (AMA); 2021; DOI: 10.1001/jama.2021.7563
- [21] Haas EJ, Angulo FJ, McLaughlin JM, Anis E, Singer SR, Khan F, et al. Impact and effectiveness of mRNA BNT162b2 vaccine against SARS-CoV-2 infections and COVID-19 cases, hospitalizations, and deaths following a nationwide vaccination campaign in Israel: an observational study using national surveillance data. The Lancet. Elsevier BV; 2021;397(10287):1819–29. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00947-8
- [22] 1. Gobbi F, Buonfrate D, Moro L, Rodari P, Piubelli C, Caldrelli S, et al. Antibody Response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Subjects with Prior SARS-CoV-2 Infection. Viruses. MDPI AG; 2021;13(3):422. DOI: 10.3390/v13030422
- [23] Vasileiou E, Simpson CR, Shi T, Kerr S, Agrawal U, Akbari A, et al. Interim findings from first-dose mass COVID-19 vaccination roll-out and COVID-19 hospital admissions in Scotland: a national prospective cohort study. The Lancet. Elsevier BV; 2021;397(10285):1646–57. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00677-2
- [24] Monin L, Laing AG, Muñoz-Ruiz M, McKenzie DR, del Molino del Barrio I, Alaguthurai T, et al. Safety and immunogenicity of one versus two doses of the COVID-19 vaccine BNT162b2 for patients with cancer: interim analysis of a prospective observational study. The Lancet Oncology. Elsevier BV; 2021;22(6):765–78. DOI: 10.1016/s1470-2045(21)00213-8
- [25] Dagan N, Barda N, Kepten E, Miron O, Perchik S, Katz MA, et al. BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Mass Vaccination Setting. N Engl J Med. Massachusetts Medical Society; 2021;384(15):1412–23. DOI: 10.1056/nejmoa2101765
- [26] Hall VJ, Foulkes S, Saei A, Andrews N, Oguti B, Charlett A, et al. COVID-19 vaccine coverage in health-care workers in England and effectiveness of BNT162b2 mRNA vaccine against infection (SIREN): a prospective, multicentre, cohort study. The Lancet. Elsevier BV; 2021;397(10286):1725–35. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00790-x
- [27] Shaw J, Stewart T, Anderson KB, Hanley S, Thomas SJ, Salmon DA, et al. Assessment of US Healthcare Personnel Attitudes Towards Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccination in a Large University Healthcare System. Clinical Infectious Diseases. Oxford University Press (OUP); 2021; DOI: 10.1093/cid/ciab054
- [28] Itzhaki Ben Zadok O, Shaul AA, Ben-Avraham B, Yaari V, Ben Zvi H, Shostak Y, et al. Immunogenicity of the BNT162b2 mRNA vaccine in heart transplant recipients – a prospective cohort study. Eur J Heart Fail. Wiley; 2021; DOI: 10.1002/ehf.2199

- [29] Danese E, Montagnana M, Salvagno GL, Peserico D, Pighi L, De Nitto S, et al. Comprehensive assessment of humoral response after Pfizer BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccination: a three-case series. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. Walter de Gruyter GmbH; 2021;0(0). DOI: 10.1515/cclm-2021-0339
- [30] 1. Chung JY, Thone MN, Kwon YJ. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier BV; 2021;170:1–25. DOI: 10.1016/j.addr.2020.12.011
- [31] Lamb YN. BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval. *Drugs*. Springer Science and Business Media LLC; 2021;81(4):495–501. DOI: 10.1007/s40265-021-01480-7
- [32] De León-Rodríguez SG, Hernández-Rico B, Del Olmo-Vázquez G, Cruz-Dávalos I, Bonifaz LC. SARS-CoV-2: previous coronaviruses, immune response, and development of vaccines. *BMHIM*. Publicidad Permanyer, SLU; 2020;77(5). DOI: 10.24875/bmhim.200001911
- [33] Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;581(7807):215–20. DOI: 10.1038/s41586-020-2180-5
- [34] Sokolowska M, Lukasik ZM, Agache I, Akdis CA, Akdis D, Akdis M, et al. Immunology of COVID-19: Mechanisms, clinical outcome, diagnostics, and perspectives—A report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). *Allergy*. Wiley; 2020;75(10):2445–76. DOI: 10.1111/all.14462
- [35] La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reproductive BioMedicine Online*. Elsevier BV; 2020;41(3):483–99. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.06.001
- [36] Speletas M, Kyritsi MA, Vontas A, Theodoridou A, Chrysanthidis T, Hatzianastasiou S, et al. Evaluation of Two Chemiluminescent and Three ELISA Immunoassays for the Detection of SARS-CoV-2 IgG Antibodies: Implications for Disease Diagnosis and Patients' Management. *Front Immunol*. Frontiers Media SA; 2020;11. DOI: 10.3389/fimmu.2020.609242
- [37] Cozzi D, Albanesi M, Cavigli E, Moroni C, Bindi A, Luvarà S, et al. Chest X-ray in new Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) infection: findings and correlation with clinical outcome. *Radiol med*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;125(8):730–7. DOI: 10.1007/s11547-020-01232-9
- [38] Tregoning JS, Brown ES, Cheeseman HM, Flight KE, Higham SL, Lemm N -M., et al. Vaccines for COVID-19. *Clin Exp Immunol*. Wiley; 2020;202(2):162–92. DOI: 10.1111/cei.13517

- [39] Jackson LA, Anderson EJ, Roupheal NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 2020;383(20):1920–31. DOI: 10.1056/nejmoa2022483
- [40] Yang J, Wang W, Chen Z, Lu S, Yang F, Bi Z, et al. A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity. *Nature*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;586(7830):572–7. DOI: 10.1038/s41586-020-2599-8
- [41] Palacios R, Patiño EG, de Oliveira Piorelli R, Conde MTRP, Batista AP, Zeng G, et al. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated) Vaccine Manufactured by Sinovac – PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;21(1). DOI: 10.1186/s13063-020-04775-4
- [42] Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the Immune System. *Physiol Res*. Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences; 2020;379–88. DOI: 10.33549/physiolres.934492
- [43] Portela Sousa C, Brites C. Immune response in SARS-CoV-2 infection: the role of interferons type I and type III. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. Elsevier BV; 2020;24(5):428–33. DOI: 10.1016/j.bjid.2020.07.011
- [44] Chowdhury MA, Hossain N, Kashem MA, Shahid MdA, Alam A. Immune response in COVID-19: A review. *Journal of Infection and Public Health*. Elsevier BV; 2020;13(11):1619–29. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.07.001
- [45] Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, Veen W, Brüggen M, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*. Wiley; 2020;75(7):1564–81. DOI: 10.1111/all.14364
- [46] Melgaço JG, Azamor T, Ano Bom APD. Protective immunity after COVID-19 has been questioned: What can we do without SARS-CoV-2-IgG detection? *Cellular Immunology*. Elsevier BV; 2020; 353:104114. DOI: 10.1016/j.cellimm.2020.104114
- [47] Nguyen-Contant P, Embong AK, Kanagaiah P, Chaves FA, Yang H, Branche AR, et al. S Protein-Reactive IgG and Memory B Cell Production after Human SARS-CoV-2 Infection Includes Broad Reactivity to the S2 Subunit. *Ellebedy A, Schultz-Cherry S, directeurs. mBio*. American Society for Microbiology; 2020;11(5). DOI: 10.1128/mbio.01991-20
- [48] Chi X, Yan R, Zhang J, Zhang G, Zhang Y, Hao M, et al. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2. *Science*. American

Association for the Advancement of Science (AAAS); 2020;369(6504):650–5. DOI:

10.1126/science.abc6952

[49] Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 2020;383(18):1724–34. DOI: 10.1056/nejmoa2026116

[50] Herroelen PH, Martens GA, De Smet D, Swaerts K, Decavele A-S. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2. *American Journal of Clinical Pathology*. Oxford University Press (OUP); 2020;154(5):610–9. DOI: 10.1093/ajcp/aqaa140

[51] Ni L, Ye F, Cheng M-L, Feng Y, Deng Y-Q, Zhao H, et al. Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals. *Immunity*. Elsevier BV; 2020;52(6):971-977.e3. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.023

[52] Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;586(7830):594–9. DOI: 10.1038/s41586-020-2814-7

[53] Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 2020;383(27):2603–15. DOI: 10.1056/nejmoa2034577

[54] Ewer KJ, Barrett JR, Belij-Rammerstorfer S, Sharpe H, Makinson R, et al. T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. *Nat Med*. Springer Science and Business Media LLC; 2020;27(2):270–8. DOI: 10.1038/s41591-020-01194-5

[55] Prymula R, Siegrist C-A, Chlibek R, Zemlickova H, Vackova M, Smetana J, et al. Effect of prophylactic paracetamol administration at time of vaccination on febrile reactions and antibody responses in children: two open-label, randomized controlled trials. *The Lancet*. Elsevier BV; 2009;374(9698):1339–50. DOI: 10.1016/s0140-6736(09)61208-3

[56] Bartlett BL, Pellicane AJ, Tying SK. Vaccine immunology. *Dermatologic Therapy*. Wiley; 2009;22(2):104–9. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2009.01223.x

[57] Plapp F. The COVID-19 Pandemic: Summary. *The Pathologist*. 2020

[58] Long, S, Prober C, Fischer M, Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 5th edition. Elsevier. 2017; ISBN: 9780323461337

[59] Silbernagl S, Lang F, Color atlas of pathophysiology. 3rd edition. Thieme. 2016; ISBN10 3131165537

[60] Abbas A, Lichtman A, & Pillai S. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 5th edition. Elsevier. 2015; ISBN-10: 032339082

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Το παράρτημα 1 περιλαμβάνει το πρωτόκολλο και τα ερωτηματολόγια της μελέτης με τίτλο «Μελέτη επαγωγής χυμικής και κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό COVID-19», η οποία πραγματοποιείται σε συνεργασία του τμήματος Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας και του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του κλινικοεργαστηριακού τομέα του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε τμήμα των αποτελεσμάτων της προαναφερθείσας μελέτης, τα ερωτηματολόγια και η έγκριση του παρόντος πρωτοκόλλου από το πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



Λάρισα 21-1-2021

ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΧΥΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΜΕΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΓΙΑ COVID-19

A. ΣΚΟΠΟΣ

Η μελέτη της επίτευξης και της διάρκειας των αντισωματικών και κυτταρικών ανοσιακών απαντήσεων μετά εμβολιασμό έναντι του SARS-CoV-2. Συσχετίσεις με το γενετικό υπόστρωμα των ατόμων θα αναζητηθούν σε δεύτερη φάση, και με βάση τον (οικονομικό) προϋπολογισμό της μελέτης.

B. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

B.1. Δείγμα 900 ατόμων που προσέρχονται για εμβολιασμό με τα εμβόλια Pfizer (300), Moderna (300), AstraZeneca (300) και από τις κάτωθι ηλικιακές ομάδες: 20-50 ετών (ομάδα Α), 51-70 ετών (ομάδα Β), και > 70 ετών (ομάδα Γ)

B.2. Η συμπλήρωση κατάλληλου ερωτηματολογίου θα πραγματοποιηθεί κατά την πρώτη επίσκεψη χορήγησης του εμβολίου και θα αφορά:

1. ηλικία,

2. φύλο,
3. ιατρικό ιστορικό (νοσήματα και πιθανή λήψη φαρμάκων),
4. **υπογραφή εντύπου συγκατάθεσης**, που θα αφορά τόσο τον έλεγχο των αντισωματικών και κυτταρικών απαντήσεων, όσο και πιθανή γενετική ανάλυση (το έντυπο συγκατάθεσης επισυνάπτεται στα έντυπα της παρούσας πρότασης – έντυπο 1),
5. κατά την 3η αιμοληψία (42η ημέρα από τον πρώτο εμβολιασμό), θα συμπληρωθεί έντυπο παρακολούθησης που θα αφορά τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες του εμβολιασμού, καθώς και πιθανές μεταβολές στην υγεία του ασθενούς (συνημμένο έντυπο 2),
6. Παρόμοιο ερωτηματολόγιο θα συμπληρωθεί και κατά την 5η αιμοληψία (6 μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου) (συνημμένο έντυπο 3)

B.3. Λήψεις δέγματος αίματος θα γίνει:

1. κατά την πρώτη επίσκεψη (πρώτη δόση εμβολίου - έλεγχος αναφοράς, baseline),
2. κατά την δεύτερη επίσκεψη (δεύτερη δόση εμβολίου – τρεις εβδομάδες μετά την πρώτη δόση),
3. τρεις εβδομάδες μετά την δεύτερη δόση του εμβολίου,
4. τρεις μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου,
5. έξι μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου,
6. σε άτομα με ικανοποιητικό τίτλο αντισωμάτων κατά την φάση (5) θα γίνει επαναληπτικός έλεγχος 3 και 6 μήνες μετά.

B.4. Η αιμοληψία θα αφορά για όλους τους συμμετέχοντες (520):

1. στη φάση 1 (πρώτη επίσκεψη), τη λήψη περίπου 8-10 cc ολικού αίματος. Μέρος αυτό (4-6 cc σε σωληνάρια ορού) θα φυγοκεντρηθεί εντός 1-2 ωρών στις 3.000 rpm για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και το υπερκείμενο (ορός) θα αποθηκευτεί στους -20 C για μελλοντική χρήση. Το υπόλοιπο (2- 4 cc σε σωληνάρια/α με EDTA) θα χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση γενετικού υλικού (και για πιθανές γενετικές αναλύσεις στη δεύτερη φάση της μελέτης). Τα σωληνάρια αίματος σε EDTA θα αποθηκευτούν προσωρινά στους 40C και θα αποστέλλονται εντός εβδομάδος στο Εργαστήριο Ανοσολογίας για απομόνωση γενετικού υλικού, το οποίο και θα αποθηκεύεται στους -800C για μελλοντική χρήση.
2. Στις επόμενες φάσεις (2-6), τη λήψη μόνο 4-6 cc ολικού αίματος (σε σωληνάρια ορού), που θα φυγοκεντρηθεί και θα αποθηκευτεί όπως αναφέρεται παραπάνω

3. Σε τυχαίως επιλεγμένα 45 άτομα (15 για κάθε εμβόλιο) θα γίνει περαιτέρω αιμοληψία 20 cc αίματος σε EDTA (3 εβδομάδες μετά τη δεύτερη δόση εμβολίου και 6 μήνες από τον πρώτη δόση) για τη μελέτη των T κυτταρικών απαντήσεων, που θα περιγράφουν με λεπτομέρεια παρακάτω. Η επεξεργασία και η ανάλυση αυτών των δειγμάτων θα γίνει εντός δύο (2) ωρών από την αιμοληψία.

Γ. ΜΕΘΟΔΟΙ

Γ.1. Εκτίμηση IgG/IgM/IgA αντισωματικών απαντήσεων έναντι εμβολίου

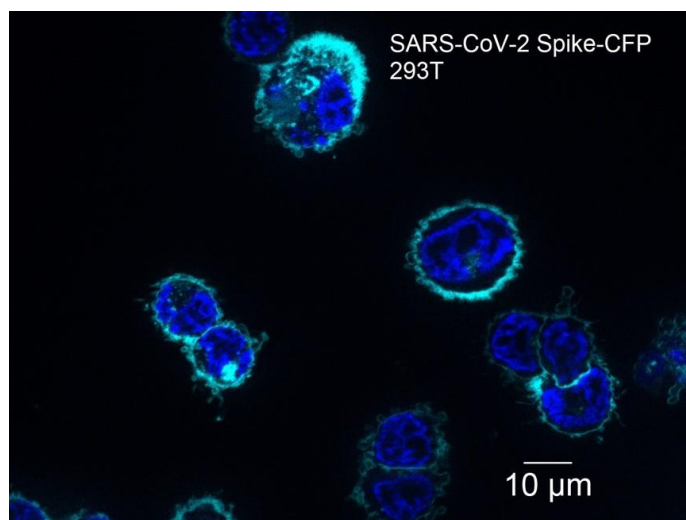
Θα γίνει σε όλα τα άτομα που θα ενταχθούν στη μελέτη και θα αφορά:

1. Σε όλα τα στάδια (1-6): προσδιορισμός IgG/IgM/IgA αντισωμάτων έναντι πρωτεϊνών S1/RBD και N χρησιμοποιώντας μεθόδους χημειοφωταύγειας και ELISA, σύμφωνα με την εμπειρία των Εργαστηρίων μας. Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι οι απαντήσεις έναντι του εμβολίου θα είναι πάντα anti-S, η πιθανή ανίχνευσή anti-N αντισωμάτων θα υποδηλώνει αντισωματική απάντηση μετά από νόσηση από τον ιό SARS-CoV-2 και όχι λόγω του εμβολίου
2. Στις φάσεις (2) έως και (6): σε περίπτωση αρνητικών αποτελεσμάτων στον προσδιορισμό IgG/IgM/IgA αντισωμάτων έναντι πρωτεΐνης S1/RBD, θα χρησιμοποιηθεί επιβεβαιωτική μέθοδος ELISA και πάλι στη βάση της ήδη δημοσιευμένης εμπειρίας των Εργαστηρίων μας. Στις περιπτώσεις ανίχνευσης IgG αντισωμάτων μόνο με ELISA, θα επαναπροσδιοριστεί ο τίτλος τους στην φάση (1) (για αποκλεισμό μη ειδικών αποτελεσμάτων) και θα ακολουθείται αυτή η μέθοδος παρακολούθησης για τα συγκεκριμένα άτομα και στις επόμενες φάσεις.

Γ.2. Μελέτη εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι SARS-CoV-2: Θα χρησιμοποιηθεί πρόσφατα εμπορικά διαθέσιμο kit, σε επιλεγμένο αριθμό (30 για κάθε εμβόλιο, σύνολο 90) δειγμάτων (cPass™ SARS-CoV-2 Neutralization Antibody Detection Kit, GenScript), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Γ.3. Λειτουργική εκτίμηση χυμικής ανοσίας με προσδιορισμό αντισωμάτων έναντι SARS-CoV-2. Η μεθοδολογία αυτή θα ακολουθηθεί στο Ιατρικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε επιλεγμένο αριθμό δειγμάτων (30, 10 άτομα από κάθε ομάδα εμβολίου). Θα χρησιμοποιηθεί η νεοπλασματική κυτταρική σειρά 293T, στην οποία έχει τροποποιηθεί ο υποδοχέας BAFFR και εκφράζει στην επιφάνειά του την πρωτεΐνη S του ιού SARS-CoV-2, ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα του υποδοχέα παραμένει λειτουργικό, δίνοντας τη δυνατότητα μελέτης της ενδοκυττάριας σηματοδότησης. Η σειρά προέρχεται από το Πανεπιστήμιο του Freiburg (Γερμανία), στα πλαίσια

συνεργασίας του Εργαστηρίου Ανοσολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με τον καθηγητή Hermann Eibel, από τη μονάδα Πρωτοπαθών Ανοσοανεπαρκειών. Η μελέτη θα γίνει με κυτταρομετρία ροής, όπου καλλιέργεια των κυττάρων θα επωασθεί με ορό εμβολιασμένων ατόμων (χωρίς να απαιτηθεί περαιτέρω αιμοληψία, από αυτήν που περιεγράφηκε παραπάνω) και θα ελεγχθεί η παρουσία IgM, IgA & IgG αντισωμάτων στις φάσεις (2), (3) και (5). Τα αποτελέσματα θα συσχετιστούν με τον τίτλο των αντισωμάτων στον ορό των εμβολιασμένων ατόμων (αποτελέσματα Γ1).



Γ.4. Εκτίμηση κυτταρικής ανοσίας

Θα γίνει προσδιορισμός των επαγόμενων υποπληθυσμών T κυττάρων στις φάσεις (2), (3) και (5), με προοπτική περαιτέρω μελέτης τους, δυνητικά 12 και 24 μήνες μετά τον εμβολιασμό, με χρήση κυτταροκαλλιεργειών και κυτταρομετρίας ροής.

Δείγμα: Ολικό αίμα (20 cc) θα φυγοκεντρηθεί στους 4 C, στα 400g (1200 rpm) με χρήση Ficoll Histopaque 1077 για απομόνωση PBMC (4 cc αίματος + 4 cc Ficoll σε σωληνάρια Eppendorf 15cc x 5). Θα ακολουθήσουν δύο πλύσεις της στοιβάδας των PBMC με RPMI (ή παρόμοιο θρεπτικό υλικό) και θα ακολουθήσει τελική αποθήκευση ζωντανών κυττάρων (με χρήση 10% FBS & DMSO) στους -80 0C, για μελλοντική χρήση.

Η εκτίμηση της κυτταρικής ανοσίας θα γίνει με τη χρήση αντιδραστηρίων της εταιρείας Miltenyi Biotec [SARS-CoV-2 T Cell Analysis Kit (PBMC), human και PepTivator SARS- CoV-2 Prot_S peptides], σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Με τη χρήση των ως άνω μεθοδολογιών:

1. θα αξιολογηθεί η επαγόμενη χυμική και κυτταρική ανοσία σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες, αλλά και σε άτομα με διαφορετικό νοσολογικό υπόστρωμα (π.χ. σε ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη και αυτοάνοσα νοσήματα, συγκριτικά πάντα με άτομα χωρίς σοβαρό ατομικό αναμνηστικό)
2. θα αξιολογηθεί η επαγόμενη χυμική και κυτταρική ανοσία μεταξύ διαφορετικών τύπων εμβολίων
3. θα γίνει περαιτέρω μελέτη των ατόμων που δεν ανέπτυξαν μετά από τον εμβολιασμό ικανοποιητικές αντισωματικές ή/και κυτταρικού τύπου απαντήσεις (έλεγχος λοιπών αντισωματικών απαντήσεων, μελέτη HLA γονοτύπου και πολυμορφισμών ανοσογονιδίων, ανάδειξη γενετικών βιοδεικτών)

Ματθαίος Γ. Σπελέτας

Χρήστος Χατζηχριστοδούλου

Καθηγητής Ιατρικής Ανοσολογίας

Καθηγητής Υγιεινής & Επιδημιολογίας

Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



ΕΝΤΥΠΟ Ι

ΘΕΣΗ ΚΩΔΙΚΟΥ

**ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΧΥΜΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΜΕΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΓΙΑ COVID-19**

Ημερομηνία συλλογής (ημέρα/ μήνας/ έτος):

Επίθετο Όνομα Φύλο

ΑΜΚΑ:

Διεύθυνση Πόλη ΤΚ Τηλέφωνο

Ιατρικό ιστορικό (περιγράψτε αν υπάρχει):

Λήψη φαρμάκων (περιγράψτε αν υπάρχουν):

Στοιχεία καταγράφοντος ιατρού

Επίθετο και όνομα:

Ειδικότητα:

Διεύθυνση Πόλη ΤΚ Τηλέφωνο E-mail

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

* Το παρόν απόκομμα πρέπει να είναι πλήρως συμπληρωμένο και υπογεγραμμένο από τον/την ασθενή

Συγκατάθεση ασθενούς:

Ο/Η υπογράφων.....συναινώ στην λήψη δείγματος ολικού αίματος, καθώς και δημογραφικών και κλινικών δεδομένων μου, για την «ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΧΥΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΜΕΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΓΙΑ COVID-19». Έχω ενημερωθεί ότι πέραν της αρχικής μελέτης (ανίχνευση αντισωματικών και κυτταρικών ανοσιακών απαντήσεων), μπορεί να απαιτηθεί γενετική ανάλυση για την ανίχνευση γενετικών πολυμορφισμών ανοσογονιδίων (που πιθανώς να σχετίζονται με την ικανότητα και τη διάρκεια των ανοσιακών μου απαντήσεων). Όποια επιστημονικά δεδομένα προκύψουν (ανακοινώσεις σε συνέδρια ή δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά) θα γίνουν πάντα ανώνυμα, ώστε να διαφυλάσσονται τα προσωπικά μου στοιχεία και δεδομένα. Όλα τα ευρήματα ή/και συμπεράσματα της παρούσας μελέτης και οι πιθανές τους χρήσεις εκχωρούνται στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σύμφωνα με τον κώδικα δεοντολογίας του ΠΘ. Για ενημέρωση επί των αποτελεσμάτων, τυχόν παράπονα ή καταγγελίες, μπορείτε να απευθυνθείτε στο email του Εργαστηρίου Ανοσολογίας του Τμήματος Ιατρικής του ΠΘ (anosologiko.pgnl@gmail.com)

Υπογραφή

Σημείωση: η δεύτερη σελίδα του εντύπου συγκατάθεσης θα εκτυπώνεται εις διπλούν και θα δίνεται (υπογεγραμμένη) και για το αρχείο του δότη



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



ΕΝΤΥΠΟ II

ΘΕΣΗ ΚΩΔΙΚΟΥ

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ (FOLLOW-UP) ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ
ΧΥΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΜΕΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΓΙΑ COVID-19**

(συμπληρώνεται την μέρα 42 από τον πρώτο εμβολιασμό)

Ημερομηνία συλλογής (ημέρα/ μήνας/ έτος):

Επίθετο Όνομα Φύλο

ΑΜΚΑ:

Διεύθυνση Πόλη ΤΚ Τηλέφωνο

A. Ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τον πρώτο εμβολιασμό (αν ναι καταγράψτε)

B. Ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τον δεύτερο εμβολιασμό (αν ναι καταγράψτε)

Γ. Υπήρξε επαφή με άτομο που διαγνώστηκε στην πορεία με COVID-19 (και πότε):

Δ. Είχατε συμπτώματα που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε λοίμωξη COVID-19 (πυρετό, βήχα, δύσπνοια, ανοσμία, αγευσία) (αν ναι, πότε):



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



Ε. Αλλαξε κάτι στην φαρμακευτική σας αγωγή (αν λαμβάνετε οποιαδήποτε αγωγή) μετά τον εμβολιασμό έναντι της COVID-19 (αν ναι, καταγράψτε με λεπτομέρεια):

Στοιχεία καταγράφοντος ιατρού

Επίθετο και όνομα:

Ειδικότητα:

Διεύθυνση Πόλη ΤΚ Τηλέφωνο E-mail



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



ΕΝΤΥΠΟ III

ΘΕΣΗ ΚΩΔΙΚΟΥ

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ (FOLLOW-UP) ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ
ΧΥΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΜΕΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΓΙΑ COVID-19**

(συμπληρώνεται 6 μήνες από τον πρώτο εμβολιασμό)

Ημερομηνία συλλογής (ημέρα/ μήνας/ έτος):

Επίθετο Όνομα Φύλο

ΑΜΚΑ:

Διεύθυνση Πόλη ΤΚ Τηλέφωνο

A. Υπήρξε επαφή με άτομο που διαγνώστηκε στην πορεία με COVID-19 (και τότε):

B. Είχατε συμπτώματα που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε λοίμωξη COVID-19 (πυρετό, βήχα, δύσπνοια, ανοσμία, αγευσία) (αν ναι, τότε):

Γ. Άλλαξε κάτι στην φαρμακευτική σας αγωγή (αν λαμβάνετε οποιαδήποτε αγωγή) μετά τον εμβολιασμό έναντι της COVID-19 (αν ναι, καταγράψτε με λεπτομέρεια):



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

Εργαστήριο Υγιεινής & Επιδημιολογίας: Διευθυντής Καθ. Χ.
Χατζηχριστοδούλου Εργαστήριο Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας:
Διευθυντής Καθ. Μ. Σπελέτας



Στοιχεία καταγράφοντος ιατρού

Επίθετο και όνομα:

Ειδικότητα:

Διεύθυνση Πόλη TK Τηλέφωνο E-mail

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑ»



**Αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης που επάγεται μετά τον εμβολιασμό με
COVID-19 mRNA BNT162b2 έναντι του SARS-CoV-2 σε ενήλικες**

A. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπό της μελέτης είναι η αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης που επάγεται μετά τον εμβολιασμό με δύο δόσεις του εμβολίου COVID-19 mRNA BNT162b2 έναντι του SARS-COV-2, καθώς και η διάρκεια της ανοσίας.

B. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

B.1. Δείγμα 102 ατόμων που προσέρχονται για εμβολιασμό με τα εμβόλια Pfizer και από τις κάτωθι ηλικιακές ομάδες: 18-49 ετών (ομάδα Α), 50-69 ετών (ομάδα Β), και ≥ 70 ετών (ομάδα Γ)

B.2. Η συμπλήρωση κατάλληλου ερωτηματολογίου θα πραγματοποιηθεί κατά την πρώτη επίσκεψη χορήγησης του εμβολίου και θα αφορά: ηλικία, φύλο, ιατρικό ιστορικό (νοσήματα και πιθανή λήψη φαρμάκων), υπογραφή εντύπου συγκατάθεσης. Κατά την 3η αιμοληψία (42η ημέρα από τον πρώτο εμβολιασμό), θα συμπληρωθεί έντυπο παρακολούθησης που θα αφορά τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες του εμβολιασμού, καθώς και πιθανές μεταβολές στην υγεία του ασθενούς. Παρόμοιο ερωτηματολόγιο θα συμπληρωθεί και κατά την 5η αιμοληψία (6 μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου).

B.3. Λήψεις δείγματος αίματος θα γίνουν:

1. κατά την πρώτη επίσκεψη (πρώτη δόση εμβολίου - έλεγχος αναφοράς, baseline),
2. κατά την δεύτερη επίσκεψη (δεύτερη δόση εμβολίου – τρεις εβδομάδες μετά την πρώτη δόση),
3. τρεις εβδομάδες μετά την δεύτερη δόση του εμβολίου,

4. τρεις μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου,
5. έξι μήνες από την πρώτη δόση του εμβολίου,
6. σε άτομα με ικανοποιητικό τίτλο αντισωμάτων κατά την φάση (5) θα γίνει επαναληπτικός έλεγχος 3 και 6 μήνες μετά.

B.4. Η αιμοληψία θα αφορά όλους τους συμμετέχοντες:

Σε όλες τις αιμοληψίες θα γίνει λήψη περίπου 4-6 cc ολικού αίματος, το οποίο θα φυγοκεντρηθεί εντός 1-2 ωρών στις 3.500 rpm για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και το υπερκείμενο (ορός) θα αποθηκευτεί στους -20 C για μελλοντική χρήση.

Γ. ΜΕΘΟΔΟΙ

Η εκτίμηση IgG/IgA αντισωματικών απαντήσεων έναντι εμβολίου θα γίνει σε όλα τα άτομα που θα ενταχθούν στη μελέτη και θα αφορά σε όλα τα στάδια (1-6) τον προσδιορισμό των IgG και IgA αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S με τη με τη μέθοδο της ELISA στο εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας και των αντισωμάτων N και των IgG αντισωμάτων έναντι της RBD της S1 υποομάδας της πρωτεΐνης της ακίδας του SARS-CoV-2, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας στο εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας. Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι οι απαντήσεις έναντι του εμβολίου θα είναι πάντα anti-S, η πιθανή αντίχρευσή anti-N αντισωμάτων θα υποδηλώνει αντισωματική απάντηση μετά από νόσηση από τον ιό SARS-CoV-2 και όχι απάντηση στο εμβόλιο.

Δ. ANAMENOMENA ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με τη χρήση των ως άνω μεθοδολογιών θα αξιολογηθεί:

1. η επαγόμενη χυμική ανοσία σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες, αλλά και σε άτομα με διαφορετικό νοσολογικό υπόστρωμα (π.χ. σε ασθενείς με χρόνια νοσήματα, όπως η αρτηριακή υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης και αυτοάνοσα νοσήματα).
2. το χρονικό διάστημα διατήρησης της χυμικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό
3. διαφορές στην παραγωγή αντισωμάτων μεταξύ των συμμετεχόντων που νόσησαν και αυτών που δεν έχουν μολυνθεί από τον SARS-CoV-2
4. κατά πόσο ο εμβολιασμός απέτρεψε την ενδεχόμενη μόλυνση και νόσο COVID-19
5. η συσχέτιση της εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών με την ανάπτυξη ανοσιακής απάντησης.

E. ΗΘΙΚΗ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

Το παρόν πρωτόκολλο συγγράφηκε για την μελέτη της παρούσας διπλωματικής εργασίας, η οποία αποτελεί τμήμα της μελέτης «Μελέτη επαγωγής χυμικής και κυτταρικής ανοσίας μετά τον εμβολιασμό COVID-19», η οποία πραγματοποιείται σε συνεργασία του τμήματος Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας και του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του κλινικοεργαστηριακού τομέα του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα δεδομένα και τα αποτελέσματα θα χρησιμοποιηθούν μόνο για της ανάγκες της δεδομένης διπλωματικής εργασίας. Σκοπός της παρούσας εργασίας δεν είναι η δημοσίευση των δεδομένων και αποτελεσμάτων.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΠΙΝΑΚΑΣ 7 Αριθμός συμμετεχόντων που ανέπτυξε IgG αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης της ακίδας με τη μέθοδο ELISA σε κάθε αιμοληψία (21 ημέρες, 42 ημέρες), σύμφωνα με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τις συννοσηρότητες, θετική PCR προ εμβολιασμού και ανεπιθύμητες ενέργειες μετά την πρώτη και δεύτερη δόση του εμβολίου.

IgG anti-S ELISA	21ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	n (%*)	n (%*)	n (%*)
18-49	28/33 (85%)	33/33 (100%)	33/100 (33%)
50-69	27/33 (82%)	33/33 (100%)	33/100 (33%)
>70	13/34 (38%)	30/33 (88%)	34/100 (33%)
ΦΥΛΟ			
ΑΡΡΕΝ	25/34 (74%)	33/34 (97%)	34/100 (34%)
ΘΗΛΥ	43/66 (65%)	63/66 (95%)	66/100 (66%)
ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ			
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	16/31 (52%)	29/31 (94%)	31/100 (31%)
ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	11/22 (50%)	20/22 (91%)	22/100 (22%)
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	7/11 (64%)	11/11 (100%)	11/100 (11%)
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	4/7 (57%)	7/7 (100%)	7/100 (7%)
ΑΣΘΜΑ/ΧΑΠ	2/3 (67%)	3/3 (100%)	3/100 (3%)
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ/ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ	4/5 (80%)	5/5 (100%)	5/100 (5%)
ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	4/12 (33%)	11/12 (92%)	12/100 (12%)
ΑΝΟΙΑ/ΨΥΧΩΣΙΚΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ/ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	11/21 (52%)	21/21 (100%)	21/100 (21%)
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	40/66 (61%)	63/66 (95%)	66/100 (66%)
PCR ΘΕΤΙΚΗ			
ΠΡΙΝ	9/9 (100%)	9/9 (9%)	9/100 (9%)
ΜΕΤΑ	1/2 (50%)	2/2 (100%)	2/100 (2%)
ΠΟΤΕ	58/89 (57%)	85/89 (83%)	89/100 (87%)
ΣΥΝΟΛΟ	68/100 (68%)	96/100 (96%)	
ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 21 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 42 ΗΜΕΡΕΣ	
ΠΥΡΕΤΟΣ	4/100 (4%)	7/100 (7%)	
ΠΟΝΟΣ ΣΤΟ ΧΕΡΙ	19/100 (19%)	12/100 (12%)	
ΜΥΑΛΓΙΕΣ ΑΡΘΡΑΛΓΙΕΣ	5/100 (5%)	10/100 (10%)	
ΚΟΠΩΣΗ	2/100 (2%)	14/100 (14%)	
ΚΕΦΑΛΑΓΓΙΑ	4/100 (4%)	4/100 (4%)	
ΓΡΙΠΩΔΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ	1/100 (1%)	2/100 (2%)	
ΑΛΛΑ	4/100 (4%)	7/100 (7%)	
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 1 ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	25/100 (25%)	32/100 (32%)	

*Ποσοστό % επί του συνόλου της υποομάδας.

*ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ COVID-19
MRNA BNT162B2 ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ SARS-COV-2 ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.*

ΠΙΝΑΚΑΣ 8 Αριθμός συμμετεχόντων που ανέπτυξε IgA αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης της ακίδας με τη μέθοδο ELISA σε κάθε αιμοληψία (21 ημέρες, 42 ημέρες), σύμφωνα με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τις συννοσηρότητες, θετική PCR προ εμβολιασμού και ανεπιθύμητες ενέργειες μετά την πρώτη και δεύτερη δόση του εμβολίου.

IgA anti-S ELISA	21ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	n (%*)	n (%*)	n (%*)
18-49	12/33 (36%)	30/33 (91%)	33/100 (33%)
50-69	11/33 (33%)	29/33 (89%)	33/100 (33%)
>70	5/34 (15%)	18/33 (53%)	34/100 (33%)
ΦΥΛΟ			
ΑΡΡΕΝ	15/34 (44%)	30/34 (88%)	34/100 (34%)
ΘΗΛΥ	13/66 (20%)	47/66 (71%)	66/100 (66%)
ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ			
ΑΡΘΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	7/31 (23%)	21/31 (68%)	31/100 (31%)
ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	3/22 (14%)	14/22 (64%)	22/100 (22%)
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	3/11 (27%)	8/11 (73%)	11/100 (11%)
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	0/7 (0%)	3/7 (43%)	7/100 (7%)
ΑΣΘΜΑ/ΧΑΠ	0/3 (0%)	3/3 (100%)	3/100 (3%)
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΙΡΚΕΙΑ/ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ	1/5 (20%)	4/5 (80%)	5/100 (5%)
ΑΙΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	3/12 (25%)	8/12 (67%)	12/100 (12%)
ΑΝΟΙΑ/ΨΥΧΩΣΙΚΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ/ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	5/21 (24%)	13/21 (62%)	21/100 (21%)
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	14/66 (21%)	45/66 (88%)	66/100 (66%)
PCR ΘΕΤΙΚΗ			
ΠΡΙΝ	9/9 (100%)	9/9 (9%)	9/100 (9%)
ΜΕΤΑ	0/2 (0%)	2/2 (100%)	2/100 (2%)
ΠΟΤΕ	19/89 (21%)	66/89 (74%)	89/100 (87%)
ΣΥΝΟΛΟ	68/100 (68%)	77/100 (77%)	
ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 21 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 42 ΗΜΕΡΕΣ	
ΠΥΡΕΤΟΣ	4/100 (4%)	7/100 (7%)	
ΠΟΝΟΣ ΣΤΟ ΧΕΡΙ	19/100 (19%)	12/100 (12%)	
ΜΥΑΛΓΙΕΣ ΑΡΘΡΑΛΓΙΕΣ	5/100 (5%)	10/100 (10%)	
ΚΟΠΩΣΗ	2/100 (2%)	14/100 (14%)	
ΚΕΦΑΛΑΓΙΑ	4/100 (4%)	4/100 (4%)	
ΓΡΙΠΩΔΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ	1/100 (1%)	2/100 (2%)	
ΑΛΛΑ	4/100 (4%)	7/100 (7%)	
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 1 ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	25/100 (25%)	32/100 (32%)	

*Ποσοστό % επί του συνόλου της υποομάδας.

*ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ COVID-19
MRNA BNT162B2 ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ SARS-COV-2 ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.*

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 Αριθμός συμμετεχόντων που ανέπτυξε anti-N αντισώματα έναντι του νουκλεοκαπιδίου με τη μέθοδο CMIA σε κάθε αιμοληψία (21 ημέρες, 42 ημέρες, 90 ημέρες), σύμφωνα με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τις συννοσηρότητες, θετική PCR προ εμβολιασμού και ανεπιθύμητες ενέργειες μετά την πρώτη και δεύτερη δόση του εμβολίου.

anti-N CMIA	21 ΗΜΕΡΕΣ	42 ΗΜΕΡΕΣ	90 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	n (%*)	n (%*)	n (%*)	n (%)
40-49	3/34 (9%)	2/34 (6%)	3/34 (9%)	34/100 (34%)
50-69	3/34 (9%)	3/34 (9%)	3/34 (9%)	34/100 (34%)
>70	3/34 (9%)	3/34 (9%)	3/34 (9%)	34/100 (33%)
ΦΥΛΟ				
ΑΡΡΕΝ	7/36 (20%)	7/36 (20%)	7/36 (20%)	36/102 (35%)
ΘΗΛΥ	2/66 (3%)	1/66 (2%)	2/66 (3%)	66/102 (65%)
ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ				
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	3/32 (9%)	3/32 (9%)	3/32 (9%)	32/102 (31%)
ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	3/22 (14%)	3/22 (14%)	3/22 (14%)	22/102 (22%)
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ	1/11 (9%)	1/11 (9%)	1/11 (9%)	11/102 (11%)
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	8/102 (7%)
ΑΣΘΜΑ/ΧΑΠ	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	3/102 (3%)
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ/ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ	0/5 (20%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	5/102 (5%)
ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	2/13 (15%)	2/13 (15%)	2/13 (15%)	13/102 (13%)
ΑΝΟΙΑ/ΨΥΧΩΣΙΚΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ/ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	4/21 (19%)	4/21 (19%)	4/21 (19%)	21/102 (21%)
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	7/68 (10%)	7/68 (10%)	7/68 (10%)	68/102 (67%)
PCR ΘΕΤΙΚΗ				
ΠΡΙΝ	7/10 (70%)	7/10 (70%)	7/10 (70%)	10/102 (10%)
ΜΕΤΑ	0/2 (0%)	0/2 (0%)	1/2 (50%)	2/102 (2%)
ΠΟΤΕ	2/90 (2%)	1/90 (1%)	1/90 (1%)	90/102 (88%)
ΣΥΝΟΛΟ	9/102 (9%)	8/102 (8%)	8/102 (8%)	
ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 21 ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ 42 ΗΜΕΡΕΣ		
ΠΥΡΕΤΟΣ	4/100 (4%)	7/100 (7%)		
ΠΟΝΟΣ ΣΤΟ ΧΕΡΙ	19/100 (19%)	12/100 (12%)		
ΜΥΑΛΓΙΕΣ ΑΡΘΡΑΛΓΙΕΣ	5/100 (5%)	10/100 (10%)		
ΚΟΠΩΣΗ	2/100 (2%)	14/100 (14%)		
ΚΕΦΑΛΑΓΛΙΑ	4/100 (4%)	4/100 (4%)		
ΓΡΙΠΩΔΗ ΣΥΝΔΡΟΜΗ	1/100 (1%)	2/100 (2%)		
ΆΛΛΑ	4/100 (4%)	7/100 (7%)		
ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 1 ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	25/100 (25%)	32/100 (32%)		

*Ποσοστό % επί του συνόλου της υποομάδας.